Über Umsetzung verschiedener Zuckerarten durch Bakterien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen naturwissenschaftlichen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Johannes Mendel

aus Markranstädt

Mit 3 Textfiguren

Jena

Verlag von Gustav Fischer

1911

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547023_0106

Über Umsetzung verschiedener Zuckerarten durch Bakterien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen naturwissenschaftlichen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Johannes Mendel

aus Markranstädt

Mit 3 Textfiguren

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Jena

Verlag von Gustav Fischer

1911

Von der Fakultät angenommen am 7. Dezember 1910.

Abdruck aus dem Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. II. Abteilung. Herausgegeben von Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin, Verlag von Gustav Fischer in Jena. 29. Band. 1911. Nr. 12/14.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Tübingen. Direktor: Prof. Dr. K. Wolf.]

Zu den bekanntesten Erscheinungen der Lebenstätigkeit niederer Organismen gehört die gemeinhin als Gärung bezeichnete Umsetzung stickstofffreier organischer Substanzen, als deren Erreger hauptsächlich Hefearten, in vielen Fällen aber auch Bakterien erkannt worden sind. Für die Hefen wurde infolge ihrer Bedeutung für viele Gebiete der menschlichen Tätigkeit der Chemismus der Umsetzungen von jeher eingehend untersucht; erst viel später sind auch unsere Kenntnisse von dem Wesen und den Lebensäußerungen der Bakterien durch zahlreiche Arbeiten gefördert und erweitert worden. Wir wissen, daß bezüglich des Ablaufes der Gärung zwischen diesen zwei Hauptarten der Mikroorganismen charakteristische Gleichheiten, aber auch charakteristische Unterschiede vorhanden sind.

Der Einwirkung dieser kleinsten Lebewesen unterliegen neben Säuren und Alkoholen in erhöhtem Maße Kohlehydrate, und unter diesen sind es wiederum die Zuckerarten, die ihnen als vorteilhafte, leicht zu assimilierende Kohlenstoffquelle ein günstiges Feld zur Betätigung des Umsetzungsvermögens bieten. Gleich verhalten sich Hefen und Bakterien darin, daß die große Menge der umgesetzten Stoffe in keinem Verhältnis steht zu dem geringen Maß, das zum Aufbau der neugebildeten Leibessubstanz dieser Organismen verbraucht wird. Verschiedenheiten finden sich, abgesehen von anderen, darin, daß Hefearten den Zucker fast ausschließlich in Alkohol und Kohlensäure zerlegen, die Zuckerspaltung durch Bakterien aber wesentlich anders verläuft. Hier tritt die Alkoholbildung hinter anderen Stoffwechselprodukten zurück, und das entwickelte Gas enthält neben Kohlensäure stets, allerdings in wechselnden Mengen, Wasserstoff. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß, wie z. B. E. Fischer nachwies, Hefen nur solche Kohlehydrate vergären, deren im Molekül vorhandene Anzahl von C-Atomen ein Vielfaches der Zahl drei ist, während nach Lafar (1) Bakterien eine solche Regel nicht befolgen.

Diese Ergebnisse der Untersuchungen über die chemischen Leistungen der Bakterien sind als wichtige, unumstrittene Tatsachen anzusehen, andere, interessante Fragen über ihr Verhalten zu Kohlehydraten sind teils noch gar nicht erörtert worden, teils sind die Ergebnisse strittig. Es war mir deshalb die Aufgabe gestellt worden, verschiedene Bakterien in ihrer Einwirkung auf Zuckerarten, die sich der Umsetzung als leicht zugänglich erweisen, zu untersuchen. Als solche Zuckerarten kommen Saccharide von bestimmtem chemischem Charakter in Betracht, denn das Zustandekommen des Abbauprozesses, der sogenannten Gärung, ist nach neueren Anschauungen von der Zusammensetzung der Zuckerart abhängig. So vertritt Oppenheimer (2) die Ansicht, daß eine primäre Abspaltung von Wasser den Anstoß zu den folgenden Veränderungen gibt, und Jensen (3) macht einen Unterschied zwischen echter und unechter Gärung. Während die unechte in einfachen hydrolytischen Spaltungen bestehen soll, die nur der Überführung der Nährstoffe in eine für die Zellen leichter aufnehm-

bare Form dienen, lassen sich bei der echten Gärung drei Phasen unterscheiden: Die Aufnahme der Energiequellen, deren Spaltung oder Oxydation und die Ausscheidung der Gärungsprodukte.

In Übereinstimmung mit diesen Anschauungen stehen von den Zuckerarten als unmittelbar gärfähig in erster Linie die Hexosen, Verbindungen von der allgemeinen Formel $C_6H_{12}O_6$ und von ihnen nur jene, die ihrer Konfiguration nach Vertreter der d-Reihe sind. Hierzu gehört die d-Glukose, die dieser Eigenschaften wegen am häufigsten untersucht worden ist. — Von Polyosen, die erst nach vorheriger Hydrolyse von Bakterien angegriffen werden können, hatten frühere Untersucher Laktose und Saccharose verwendet. Bekanntlich zerfällt Laktose bei der hydrolytischen Spaltung in d-Glukose und d-Galaktose, die Saccharose in d-Glukose und d-Fruktose. — Außer diesen zwei Biosen wählte ich noch Maltose, die sich infolge ihres hydrolytischen Zerfalles in 2 Mol. Glukose ebenfalls sehr gut für die bakterielle Einwirkung zu eignen schien, bisher aber nur selten zu Untersuchungen herangezogen worden ist.

Diese vier Zuckerarten wurden der Spalttätigkeit der nachstehend angeführten Bakterien ausgesetzt, die als typische Vertreter gruppenweise zusammengehöriger und in bezug auf ihre chemischen Leistungen übereinstimmender oder sehr ähnlicher Mikroorganismen angesehen werden können. Mit Ausnahme von Bact. coli wurden sie von Král (Prag) unter folgenden Bezeichnungen bezogen: Bact. vulgare, vulgo Proteus vulgaris, Bact. cloacae (E. O. Jordan), Bact. lactis aërogenes Escherich (als Vertreter der Milchsäurebakterien) und Bacillus Fitzianus (zur Gruppe des Bacillus subtilis gehörig). Das Bact. coli commune war im Hygienischen Institut bei einem Falle von Cystitis isoliert worden. Es erwies sich als heftiger Gärungserreger und zeigte im Tierversuche starke Virulenz.

Versuche über das Verhalten der genannten Bakterienarten zu verschiedenen Zuckerarten, über die Intensität ihrer Einwirkung und die Natur der Stoffwechselprodukte sind verschiedentlich angestellt worden. Einige von ihnen finden Erwähnung in der von O. Emmerling (4) zusammengestellten Übersicht über die chemischen Leistungen der Bakterien. Um indessen ein vollständiges Bild von den für vorliegende Arbeit in Frage kommenden Untersuchungen zu gewinnen, halte ich es für angebracht, die mir zugänglichen Angaben über hierher gehörige Arbeiten einer kurzen Besprechung zu unterziehen.

Unter den genannten Mikroorganismen hat sehr eingehende Bearbeitungen unter gleichzeitiger Berücksichtigung aller Stoffwechselprodukte das Bact. coli in seiner Einwirkung auf Traubenzucker gefunden. Hier sind in erster Linie die Versuche Hardens (5) zu nennen, der Peptonnährlösungen mit und ohne Zusatz von Fleischbrühe bei einem Glukosegehalt von etwa 2 Proz. anwendete. Bei Luftabschluß wurde Essigsäure, Milchsäure, Alkohol, Kohlensäure und Wasserstoff gebildet. Die Art der Milchsäure war von der Versuchsanordnung abhängig, das Verhältnis von $H_2 : CO_2$ schwankte zwischen 1 bis 1,3 vol. H_2 zu 1 vol. CO_2.

Weiter zurück liegen die Untersuchungen von Th. Smith (6). Sie beziehen sich auf die Gasbildung in 2-proz. Glukose-, Saccharose- und Laktosebouillon durch Bact. coli, Bact. lactis aërogenes und Proteus vulgaris. Er kam hierbei zu dem Ergebnisse, daß „die

Gasmenge und die Formel $H_2 : CO_2$ bei derselben Bakterienart in Flüssigkeiten derselben Zusammensetzung ziemlich konstant sind".

In einer späteren Arbeit gibt Smith (7) eine Einteilung der Bakterien nach der Gasbildung, wobei er von der Gesamtmenge des im Gärkölbchen gebildeten Gases und dem Verhältnisse von $CO_2 : H_2$ ausgehend, drei Gruppen aufstellt, nämlich:

A. Totale Gasbildung: $\frac{1}{2}$; $\frac{H_2}{CO_2} = \frac{2}{1}$;
Reaktion stark sauer. Dahin gehört Bact. coli commune.

B. Totale Gasbildung: $\frac{1}{1}$; $\frac{H_2}{CO_2} = \frac{1}{2}$ oder $\frac{1}{3}$;
Reaktion nur schwach sauer. — Bact. cloacae.

C. Totale Gasbildung: $\frac{4}{5}$ oder $\frac{1}{1}$; $\frac{H_2}{CO_2} = \frac{1}{1} \pm$;
Hierher gehört Bact. lactis aërogenes.

In den Schlußbemerkungen fordert er, daß „nicht nur Gasbildung allein, sondern auch der Gang derselben, die totale Quantität und die Quantität CO_2 bestimmt werden müsse". Für die Gasanalyse hat Smith die kleinen, einfachen, nach ihm benannten Gärkölbchen benutzt, die aber eine genaue quantitative Untersuchung des gebildeten Gases nicht ermöglichen.

Fuhrmann (8) teilt eine Analyse des von Bact. coli in glukosehaltiger Lösung entwickelten Gases mit, dessen Zusammensetzung: 30,84 Proz. CO_2, 62,86 Proz. H_2 und 6,5 Proz. eines weder brennbaren noch absorbierbaren Rückstandes betrug.

Wolff (9) ermittelte für Bact. coli und Bact. lactis aërogenes das Verhältnis von $H_2 : CO_2$. Bei ersterem Pilze war es 2 : 1, bei letzterem 1 : 1.

Über die Spaltungsprodukte des Milchzuckers bei der Vergärung durch Bact. coli in peptonhaltigen Nährlösungen berichtet Brieger (10); er fand Essigsäure, Ameisensäure und Milchsäure.

Dieselben Säuren stellte Ide (11) in glukosehaltigen Fleischextrakt-Bouillonlösungen fest.

Oppenheimer (12) gibt das Verhältnis der ermittelten Säuren aus Milchzuckerlösungen an für Bact. coli: 70 Proz. Ameisen- und Essigsäure und 30 Proz. Milchsäure, für Bact. lactis aërogenes 85 Proz. Essigsäure und 15 Proz. Milchsäure.

Ähnlich lautete das Ergebnis Baginskis (13) bei letztgenanntem Spaltpilze. Er verwendete 10-proz. Milchzuckerlösungen mit geringem Peptonzusatze.

Das Verhalten von Bact. coli und anderen Mikroorganismen zu Zuckerlösungen ist auch für diagnostische Zwecke herangezogen worden; so hat MacConkey (14) ein Schema aufgestellt, in dem Bact. coli als typischer Vertreter der Gruppe von Saccharose nicht vergärenden Spaltpilzen angeführt wird.

Stokes und Stoner (15) empfehlen, zur Identifizierung von Bact. coli bei Wasseruntersuchungen Laktose statt Glukose zu verwenden, und begründen dies damit, daß die im Wasser vorkommenden fünf gasbildenden Bakterienarten sich voneinander dadurch unterscheiden, daß die Bact. cloacae- und hog-cholera-Gruppe bei Anwendung von Laktose im Gärkölbchen kein Gas bilde, während dies bei den anderen Arten der Fall sei. Dieser Behauptung widersprechen, soweit sie sich auf das Bact. cloacae beziehen, die Angaben von Th.

Smith (7), der von einer sehr intensiven Gasbildung in Dextrose- und Saccharosebouillon und einer langsamen in Laktosebouillon berichtet.

Bact. lactis aërogenes bildet bei der Vergärung von Milchzucker nach O. Emmerling (16) neben Essigsäure auch Bernsteinsäure; bei Glukose dagegen keine oder nur Spuren von Bernsteinsäure, aber Milchsäure.

Bei einer vergleichenden Untersuchung verschiedener Milchsäurebakterien, darunter Bact. lactis aërogenes, findet E. Kayser (17), daß von Gasen nur Kohlensäure, von Säuren Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure, ferner Alkohol und Aceton entstehen. Aus Maltose wird mehr Essigsäure als aus Milchzucker gebildet.

Bact. vulgare entwickelt nach Smith (6) aus Traubenzucker und Rohrzucker reichlich Gas, das zu $\frac{1}{3}$ aus Kohlensäure und zu $\frac{2}{3}$ aus Wasserstoff besteht.

Jensen (18) schreibt ihm die Bildung von Bernsteinsäure und Ameisensäure aus Zucker zu.

Über die Verwendung von Bac. Fitzianus zu Gärversuchen mit Zuckerarten finden sich keine Angaben; er wurde bisher nur in seiner glyzerinzersetzenden Wirkung geprüft.

Schließlich sei noch eine Arbeit von Segin (19) erwähnt, der eine größere Anzahl Bakterien, darunter Bact. coli, Bact. lactis aërogenes und Bact. vulgare, hinsichtlich ihrer Einwirkung auf Zuckerarten und diesen ähnlich zusammengesetzte höherwertige Alkohole untersuchte. Als Nährböden verwendete er Nutroselösungen und Rinderblutserum mit 1-proz. Zusatze der betreffenden Zuckerart. Die Versuche wurden in Reagensgläsern gemacht und beschränkten sich auf die Feststellung, ob Säurebildung, die durch Koagulation des Kaseïns der Nutroselösung oder der Eiweißkörper des Blutserums nachgewiesen wurde, stattfand oder nicht. Hierbei wie bei späteren Versuchen (20) ergibt sich, daß „Zuckerarten von aldehyd- oder ketonartigem Charakter auf Nutrosenährböden der Einwirkung von Bakterien weit zugänglicher sind, als die solchen Verbindungen entsprechenden Alkohole".

Neben diesen Gärungserscheinungen sind in vielen Fällen gleichzeitig eintretende Zersetzungen der Nährböden, also Fäulnisvorgänge, beobachtet worden. Ein hierbei besonders häufig auftretendes Oxydationsprodukt ist Indol. Sein Nachweis gelingt oft schon mehrere Stunden nach erfolgter Impfung der Nährlösung und hat infolgedessen bei der Differentialdiagnose zwischen verschiedenen Bakteriengruppen praktische Bedeutung erlangt. Die Mitteilungen über die verschiedentlich angestellten Versuche stimmen nicht völlig überein, jedenfalls läßt sich aus ihnen schließen, daß die Indolbildung meist von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig ist, dann aber auch von der vorhandenen Zuckerart, denn sie soll bei einigen Bakterien nur in Abwesenheit bestimmter Zuckerarten eintreten.

Am häufigsten ist hinsichtlich der Indolbildung das Bact. coli untersucht worden. Smith (21) ist der Ansicht, daß das Ausbleiben der Indolreaktion auf die Säurebildung aus Zucker zurückzuführen sei, während Gorini (22) sowie Kruse und Pasquale (23) als Ursache für die negativen Ergebnisse die Anwesenheit geringer Zuckermengen ansehen.

Selter (24) stellt fest, daß in Fleischbouillon-Nährlösungen der im Fleischsafte von Natur enthaltene Traubenzucker — bis zu 0,25 Proz. — die Indolbildung verhindere; denn in reinen Peptonlösungen, besonders in

10-proz., mit Zusatz geringer Mengen von Natriumphosphat oder Magnesiumsulfat sei sie stets reichlich nachweisbar.

Nach Lehmann und Neumann (25) findet sich in 2-proz. Traubenzuckerbouillon, die mit Bact. coli geimpft worden ist, reichlich Indol. Der Grund für diese Verschiedenheit der Ergebnisse läßt sich, wie Böhme (26) meint, vielleicht in der Rasseverschiedenheit der zu den Versuchen gebrauchten Coliarten finden.

Bact. vulgare bildet nach Lehmann und Neumann (25) stark Indol, Bact. lactis aërogenes dagegen nur auf zuckerfreien Nährböden. Bac. Fitzianus und Bact. cloacae sind in dieser Beziehung noch nicht geprüft worden.

Aus allen diesen Angaben geht hervor, daß die Versuche unter äußerst wechselvollen Bedingungen ausgeführt wurden, daß sowohl bei der Wahl der Nährböden und der Apparate, in denen die Gärungen stattfanden, als auch der Konzentration der Zuckerlösungen und der Temperatur, bei der der Verlauf der Gärungen beobachtet wurde, große Verschiedenheit herrschte. Ferner erfolgten die Umsetzungsvorgänge teils bei Luftzutritt, teils unter Luftabschluß, und auch die Verwendung der Zuckerarten ist ungleichmäßig durchgeführt. Es ist deshalb nicht zu verwundern, daß die bisherigen Versuche zu verschiedenen Ergebnissen führten.

Soweit es sich um die chemischen Leistungen der in Betracht kommenden Bakterien handelt, kann natürlich bei so verschiedener Versuchsanordnung die Zersetzung derselben Zuckerart nicht gleichmäßig verlaufen. Je nachdem sich die Bakterienart unter den wechselnden Bedingungen entwickeln kann, wird die Oxydation des Zuckermoleküls das eine Mal weiter und auch schneller vorwärts schreiten als das andere Mal; die Gesamtmenge von Gas und Säure bei dem Abbauprozesse wird somit größer oder kleiner sein, und manche Nebenprodukte bei der Zuckerspaltung werden gar nicht oder in wechselnden Mengen auftreten. Daher lassen sich wohl auch die Abweichungen bei der Angabe der ermittelten Stoffwechselprodukte erklären, wenn z. B. bei der Zuckervergärung durch Bact. coli einmal Bernsteinsäure oder Propionsäure gefunden wurde, ein anderes Mal nicht. Ebenso schwankend sind auch die Angaben über das Vorhandensein von Alkohol oder Aceton und, wie schon hervorgehoben, über die Bildung von Indol.

Aus diesen Gesichtspunkten ergibt sich also, daß die gleichmäßige Untersuchung über die Umsetzung der bisher angewendeten Zuckerarten und der nur teilweise berücksichtigten Maltose durch Bakterien sehr wünschenswert war. Ich versuchte daher die Aufgabe nach verschiedener Richtung hin zu lösen, indem ich das Verhalten der Bakterien bei steigender Konzentration der Zuckerlösung und den damit in Verbindung stehenden jeweiligen Verbrauch des Zuckers sowie das Optimum der Konzentration der zu fermentierenden Zuckerlösung in Betracht zog. Ferner wurde die Gasbildung und die für die verschiedenen Bakterien charakteristische quantitative Zusammensetzung des Gases, die Säurebildung in ihrer Gesamtmenge, sowie die Menge der flüchtigen und der nichtflüchtigen Säure, die Anwesenheit von Alkohol und Aceton, das unter Umständen bei der Zersetzung des Nährbodens auftretende Indol und der in einzelnen Fällen entstehende Schwefelwasserstoff beobachtet.

Als nicht in den Rahmen dieser Arbeit fallend, sollte angesehen werden: Die Beobachtung der Umsetzungserscheinungen bei verschiedener Temperatur, bei verschiedenem Stickstoff- und Alkaligehalt des Nährbodens.

Versuche über Fortzüchtung einzelner Bakterien auf Nährböden, die bestimmte Zuckerarten enthalten, und die Prüfung ihres hierdurch möglicherweise gesteigerten Umsetzungsvermögens, sowie die Untersuchung des Preßsaftes dieser Organismen bleiben späteren Arbeiten des hygienischen Institutes vorbehalten.

Sollten bei Ausführung der Versuche zufriedenstellende Ergebnisse erzielt werden, so mußten die Gärungsvorgänge, soweit dies irgend möglich war, unter durchaus gleichen Bedingungen verlaufen. Es waren deshalb folgende Punkte einer sorgfältigen Berücksichtigung zu unterziehen: Der physiologische Zustand des betreffenden Bakteriums mußte stets gleich sein, die Menge der Bakterien bei der jedesmaligen Einsaat möglichst geringen Schwankungen unterliegen, die Zusammensetzung des Nährbodens durfte nicht variieren, und ferner mußte Luft- und Lichtzutritt stets in gleicher Weise erfolgen.

An erster Stelle handelte es sich um die Wahl eines Nährbodens, der für alle zu untersuchenden Bakterien geeignet war. Ich stellte deshalb eine Reihe von Probeversuchen mit einfach zusammengesetzten Nährlösungen an, in denen genau bekannte Verbindungen als Stickstoffquelle dienten. In ihrer Zusammensetzung waren diese Nährflüssigkeiten ganz ähnlich den von Proskauer und Beck (27) angegebenen, nämlich:

Lösung I		Lösung II	
Ammon. sulf. . . .	0,3	Asparagin	0,5
Citronensäure. . . .	0,2	Citronensäure. . .	0,075
Magnes. sulf. . . .	0,2	Glyzerin	1,0
Kal. biphosph. . . .	0,5	Kal. biphosph. . .	0,5
Glyzerin	1,5	Magnes. sulf. . .	0,25
Aq. dest. ad	100,0	Ammon. sulf. . .	0,5
		Aq. dest. ad . . .	100,0

In Lösung I war also nur Ammoniumsulfat, in Lösung II Asparagin als Stickstoffquelle vorhanden. Die Lösungen wurden an zwei Tagen je eine halbe Stunde sterilisiert, am dritten Tage mit der einem Gehalte von 1 Proz. entsprechenden Zuckermenge versetzt, nochmals 15 Minuten sterilisiert, nach dem Erkalten in Einhornsche Gärkölbchen gefüllt, mit dem Organismus geimpft und bei Brutofentemperatur stehen gelassen. Mir standen anfangs Kulturen von Bact. coli und Bac. Fitzianus zur Verfügung; für beide schienen diese Nährboden nicht geeignet zu sein, denn von den angesetzten 16 Proben waren nach fünf Tagen 4 völlig unverändert, 6 getrübt und 6 zeigten nur sehr geringe Gasentwicklung. Es geht dies aus der folgenden Tabelle hervor:

Tabelle I.

Bacterium	Lösung	Glukose	Maltose	Laktose	Saccharose
Coli	I	—	G	G	s. T.
	II	G	T	G	s. T.
Fitzianus	I	G	G	—	s. T.
	II	T	—	—	s. T.

G = Gasbildung. T = Trübung. s. T. = äußerst schwache Trübung.

Ebensowenig Erfolg brachten Versuche mit der von Kuntze (28) verwendeten Nährlösung, bei der ich den Asparagingehalt steigerte, so daß die als Lösung III und IV bezeichneten Flüssigkeiten folgende Zusammensetzung hatten.

Lösung III.			Lösung IV.		
Kal. nitrat	0,2	A	Kal. nitrat	0,2	A
Asparagin	0,5		Asparagin	1,0	
Magn. sulf.	0,2	B	B		
Citronensäure	0,5		wie bei Lösung III.		
Kal. biophosph.	0,2				
Calc. chlorid	0,02				
Eisenchlorid	gtt 1				
Aq. dest.	100,0				

A und B wurden für sich gelöst, B mit Kalilauge während des Kochens neutralisiert, dann zusammengeschüttet, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 20 Minuten sterilisiert und am dritten Tage nach Zusatz des Zuckers nochmals 15 Minuten sterilisiert.

Im übrigen war die Versuchsanordnung gleich der bei I und II. Nach acht Tagen zeigten nur die mit Bact. coli geimpften Lösungen sehr geringe Gasbildung; bei Bac. Fitzianus waren nur in laktosehaltigen Nährlösungen Gärungsvorgänge festzustellen (Tab. II).

Tabelle II.

Bacterium	Lösung	Glukose	Maltose	Laktose	Saccharose
Coli	III	G	G	G	—
	IV	G	G	G	T
Fitzianus	III	—	T	G	—
	IV	—	T	G	—

G = Gasbildung. T = Trübung.

Infolge dieser so wenig erfolgreichen Ergebnisse entschloß ich mich, eine eiweißhaltige Verbindung als günstigere Stickstoffquelle zu benutzen, wenngleich ich mich dann der Möglichkeit, den Verbrauch der einzelnen Nährstoffe zu ermitteln, entschlagen mußte. Die in der Bakteriologie in großem Umfange gebräuchliche Fleischbrühe erschien mir nicht vorteilhaft, weil von verschiedenen Autoren auf ihre nicht völlig gleichbleibende Zusammensetzung hingewiesen wird. Smith (7) hat einen Traubenzuckergehalt von Spuren bis 0,3 Proz. festgestellt, der bei Bestimmung des durch die Gärung verbrauchten Zuckers zu Fehlern führen und außerdem von Einfluß auf die Indolbildung sein kann. Ferner geht aus den Versuchen Hardens (5) hervor, daß Colikulturen in einfachen Peptonlösungen energischere Zuckerspaltung hervorrufen als in bouillonhaltigen. Da auch von Omelianski (29) und Ritter (30) Pepton mit gutem Erfolge verwendet worden und nach Selter (24) der Indolbildung besonders günstig ist, wählte ich diese Stickstoffquelle.

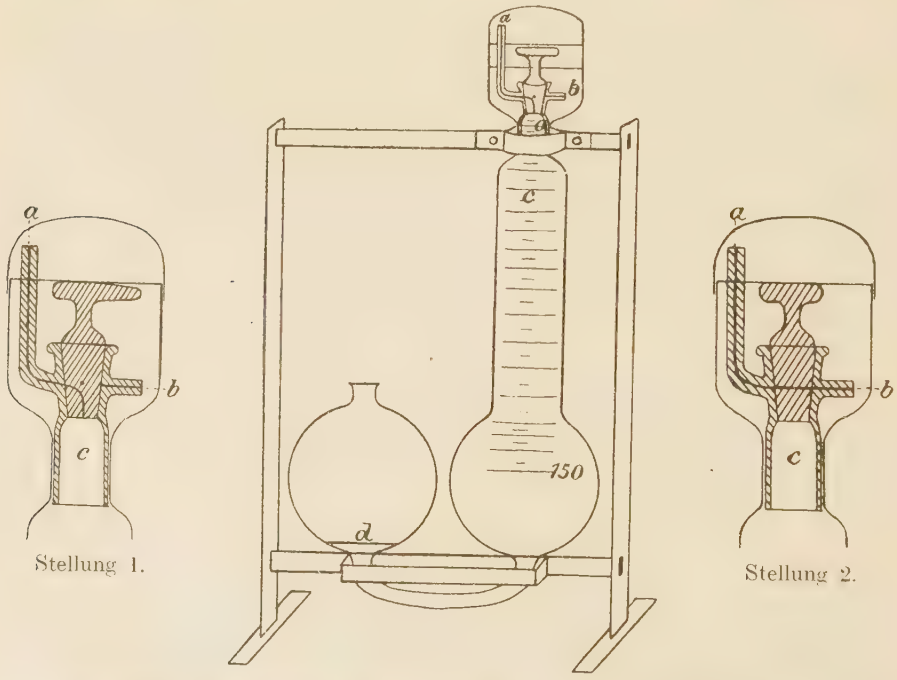
Die zuerst für Vorversuche mit denselben Bakterien und unter den gleichen Bedingungen wie bei I—IV verwendete Peptonlösung hatte folgende einfache Zusammensetzung:

Pepton	1,0
Chlornatrium	0,5
Aqu. dest. ad	100,0

Die Menge des entwickelten Gases in den Gärkölbchen war hierbei etwa 2 –3mal so groß als bei den vorhergehenden Versuchen, und es trat mit Ausnahme der Saccharoselösungen in allen Nährlösungen Gasbildung auf. Somit wurde diese Peptonkochsalzlösung für alle Versuche beibehalten.

Als Kohlenstoffquelle sollten den Bakterien die zu untersuchenden Kohlehydrate dienen. Alle vier Zuckerarten stammten von Merck, und trugen die Bezeichnungen: Traubenzucker, puriss. wasserfrei; Maltose cryst.; Laktose puriss. pulv.; Saccharose (Rohrzucker) puriss. Das Pepton wurde als Pepton Witte von Grübler bezogen.

Nachdem die Frage einer gleichmäßig günstigen Nährlösung durch die vorher beschriebenen Versuche gelöst, und die Auswahl der zu untersuchenden Zuckerarten getroffen war, handelte es sich darum, ein passendes Gefäß zu finden, in dem die Umsetzung des Zuckers durch die Bakterien erfolgen sollte. Es war dabei zweierlei zu berücksichtigen: Der zu benutzende Apparat mußte einmal genügend große Mengen Nährlösung fassen können und dann gleichzeitig die Untersuchung von Gas- und Säurebildung ermöglichen. Bei den meisten bisherigen Versuchen wurde nur die Säurebildung in Betracht gezogen, zu deren Bestimmung sich einfach Erlenmeyerkolben verwenden ließen. Wenn, wie bei Harden, auch die Gasbildung bei jedem Versuche bestimmt wurde, waren verschiedene Gefäße notwendig, die durch Glasröhren mit Gummiverschlüssen miteinander verbunden waren. Mit Rücksicht auf den beschränkten Raum im Brutschrank mußte ich für meine Versuche einfachere Apparate wählen, die leicht zu handhaben waren. Der von Ampola und Garino (31) beschriebene Apparat besitzt ebenfalls Gummiverschlüsse, die der Diffundierbarkeit des Wasserstoffs wegen zu vermeiden waren. Es erschien deshalb der von E. Hofstädter (32) empfohlene Apparat für meine Zwecke am meisten geeignet. Um dessen ausführliche Beschreibung nicht zu wiederholen, sei mir die Wiedergabe des Apparates in der beifolgenden Zeichnung gestattet:



Bei diesem vollkommen aus Glas bestehenden Apparat geschieht das

Füllen des geschlossenen Schenkels durch Saugen, nachdem man den Hahn in Stellung 1 gebracht hat. Ist die Flüssigkeit bis in die Kapillare a emporgestiegen, wodurch sämtliche Luft verdrängt wird, so bringt man den Hahn in Stellung 2, füllt den ihn umgebenden Behälter mit Quecksilber und saugt dieses noch bis in die Kapillare a. Auf diese Weise wird das Entweichen des in dem Apparate sich ansammelnden Gases unmöglich gemacht.

Ebenso einfach ist die Entnahme des Gases. Man bringt den Hahn wieder in Stellung 1 und kann das Gas ohne Verlust oder Luftzutritt in die Hempelsche bezw. Pettersson sche Bürette überführen. Die für mich bei F. Schilling (Gehlberg in Thür.) angefertigten Apparate faßten bis zur Marke d 330—340 ccm; an dem geschlossenen Schenkel ließ ich noch von oben herab eine Skala von 0—150 anbringen, die das Ablesen des von Tag zu Tag gebildeten Gasmenge bequem zuließ.

Die Temperatur, bei der die Zuckerlösungen der Gärung ausgesetzt wurden, sollte Brütofentemperatur sein. Sie betrug durchschnittlich 37,5°, wurde tagsüber zu verschiedenen Zeiten beobachtet und war bis auf geringe Schwankungen konstant.

Ziemliche Schwierigkeiten bot die Versuchsanordnung selbst. Wie sollte das Impfen der Nährlösung am zweckmäßigsten geschehen, um die Entwicklung der Bakterien und ihre Tätigkeit möglichst gleichmäßig zu gestalten? Die gewöhnlichen Angaben in der bakteriologischen Literatur gehen dahin, von der Bakterienmasse, wie sie sich auf dem Gelatinenährboden befindet, eine Platinöse voll zu nehmen. Indessen kann hierbei die Bakterienmenge sehr wechseln; mit bloßem Auge nicht wahrnehmbar, können auf diese Weise das eine Mal viele Tausende mehr als das andere Mal in die Zuckerlösung gelangen. Solche große Unterschiede bleiben gewiß nicht ohne Einfluß auf den Verlauf des Gärprozesses. Weiter wird der Zustand der Bakterien verschieden sein, je nachdem sie von älteren oder jüngeren Kulturen stammen; unter den von frischen Kulturen abgehobenen Bakterien werden die lebenskräftigen vorwiegen, auf den älteren die abgestorbenen. Wie sehr die Ergebnisse infolge wechselnder Menge und Beschaffenheit des Bakterienmaterials voneinander abweichen können, zeigten mir die ersten Versuche, von denen ich einige als Beispiel anführe.

Tabelle III.

Bacterium coli commune.

Zuckergehalt der Lösung %	Kultur	Gasmenge bei 0° u. 760 mm ccm	CO_2-Gehalt des Gases %	Gesamtsäure ccm	Zucker-verbrauch %
0,5	alt	71,8	27,71	13,22	—
0,5	neu	44,0	20,68	6,88	66,32
1,0	alt	62,2	25,72	—	39,60
1,0	neu	87,5	30,62	16,02	50,88

Die in Rubrik Gesamtsäure angegebenen Zahlen bedeuten die der Säure entsprechende Menge $\frac{n}{10}$ KOH in ccm.

Da die Einhaltung der sonstigen Bedingungen sorgfältig beobachtet wurde, konnte nichts anderes an solchen beträchtlichen Differenzen schuld sein als der physiologische Zustand der Bakterien und die ungleichmäßige Einsaat in die Zuckerlösung.

Diesen Umstand suchte ich in der Weise zu verbessern, daß ich bei den folgenden Versuchen eine Platinöse voll von der Gelatinekultur abnahm, diese in eine sterilisierte Peptonkochsalzlösung eintrug (10 ccm in einem Reagensglase), 24 Stunden bei der Versuchstemperatur stehen ließ und davon 1 ccm zum Impfen der Zuckerlösung aus den oberflächlichen Schichten entnahm. Auf diese Weise zeigten die Ergebnisse schon bessere Übereinstimmung, ließen aber noch zu wünschen übrig.

Schließlich wurde der folgende Weg eingeschlagen, der die Vorbereitung der Bakterien noch mehr in einzelne Abschnitte zerlegte. Er führte zu der erwünschten Genauigkeit und wurde für die ganze Dauer der Arbeit beibehalten. Zunächst wurde von der Originalkultur eine Platinöse voll abgenommen und eine Strichkultur auf gewöhnlicher Nährgelatine angelegt. Nach 2—3 Tagen der Entwicklung bei Zimmertemperatur wurde von dieser frischen Kultur mit der Platinöse eine kleine, makroskopisch immer möglichst gleiche Bakterienmenge abgenommen und in 20 ccm Peptonkochsalzlösung von der oben erwähnten Zusammensetzung gebracht. Diese war in einem Reagensglase in der üblichen Weise sterilisiert worden. Nach 24-stündigem Stehen bei der Versuchstemperatur wurde mit steriler Pipette nach vorherigem Umschütteln der Flüssigkeit 1 ccm der Kultur entnommen und in einen Erlenmeyerkolben eingetragen, der 50 ccm Peptonkochsalzlösung enthielt. Dieser Erlenmeyerkolben wurde wiederum 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Dann, also am 5. oder 6. Tage nach der Abnahme von der Originalkultur, wurde abermals 1 ccm der Kulturflüssigkeit mit steriler Pipette entnommen und in die Zuckerlösung gebracht. Diese wurde so hergestellt, daß der Peptonkochsalzlösung, nachdem sie an drei aufeinanderfolgenden Tagen je ½ Stunde sterilisiert und dann von dem ausgefallenen Niederschlage abfiltriert worden war, die Reaktion war dann immer neutral — am 5. Tage die dem jeweiligen Versuche entsprechende Zuckermenge zugesetzt wurde. (Der Zuckerzusatz erfolgte erst jetzt, um der Zersetzung des Traubenzuckers und der anderen Zuckerarten durch das wiederholte Sterilisieren vorzubeugen.) Darauf wurde die Nährlösung nochmals 15 Minuten sterilisiert und nach dem Erkalten in den Gärapparat gefüllt. Die offene Kugel des Apparates wurde durch einen sterilen Wattepfropfen verschlossen. Mit einiger Übung gelang es, diesen ziemlich gleich stark zu machen, so daß der Luftzutritt gleichmäßig erfolgen konnte. Die Apparate selbst standen während der ganzen Gärungsdauer im Brütofen; die Tätigkeit der Bakterien spielte sich also regelmäßig im Dunkeln ab.

Zu beachten war bei diesem Verfahren noch, daß die Kulturflüssigkeiten vor der jedesmaligen Entnahme gut geschüttelt wurden, um eine möglichst gleichmäßige Verteilung von lebenden und abgetöteten Bakterien herbeizuführen. Es erschien dies zweckmäßiger als die Entnahme aus den oberen Schichten der Flüssigkeit, da hierbei die abgesetzte und sich noch absetzende Bakterienmasse sehr leicht aufgeschüttelt werden kann, und außerdem die Flüssigkeitssäule infolge des ungleichen Durchmessers der Reagensgläser verschieden hoch ist. Ferner war darauf zu achten, daß die Zuckerlösung vor der Bakterieneinsaat stets dieselbe Temperatur, nämlich Zimmertemperatur hatte, denn in wärmeren Lösungen ging die Entwicklung der Bakterien ungleich schneller vor sich.

Um für die in Einhornschen Gärkölbchen angestellten Versuche annähernd gleiche Bakterienmengen wie für die Nährlösung in den Gär-

apparaten anzuwenden, wurde in diesen Fällen 1 Tropfen der in oben beschriebener Weise vorbereiteten Bakterienflüssigkeit in die Kölbchen gebracht.

Die Gesamtdauer eines Versuches war durch diese Methode allerdings ziemlich verlängert worden. Sie betrug von Anlegung der Strichkultur bis zur Analyse nach beendeter Gärung im kürzesten Falle 9 Tage; 4—5 Tage Zeit erforderte die Vorbereitung des betreffenden Bacteriums, und 5 Tage dauerte in den meisten Fällen die Gärung, z. B. bei Bact. coli und Bac. Fitzianus. Bei anderen, wie Bact. cloacae oder Bact. vulgare oder auch bei höherer Konzentration der Zuckerlösung war sie erst nach 8—14 Tagen beendet. Es wurden jedesmal 2—3 Versuche gleichzeitig angesetzt, und nach 2—3 Tagen die nächsten in Angriff genommen, so daß gewöhnlich 6—8 Versuche in verschiedenen Stadien der Versuchsanordnung nebeneinander herliefen.

Auf diesem, etwas umständlichen Wege gelang es, gut übereinstimmende Ergebnisse zu erzielen. Geringe Schwankungen, die sich bei aller Sorgfalt nicht vollständig vermeiden ließen, sind in der fakultativ-anaëroben Lebensweise der von mir zur Untersuchung herangezogenen Bakterien begründet. Denn bei Apparaten, wie dem von mir benutzten, die im Prinzip dem Einhornschen Gärkölbchen entsprechen, können Verschiedenheiten im Gasvolumen auch kleine Abweichungen bei der Säurebildung und im Zuckerverbrauch nach sich ziehen. Hat das bei der Umsetzung entstehende und im geschlossenen Schenkel sich ansammelnde Gas nicht bei jedem der zusammengehörigen Versuche das absolut gleiche Volumen, so wird auch eine verschieden große Menge Nährlösung in den offenen Schenkel treten, in dem andere Bedingungen, Luftzutritt und verschiedener Druck, maßgebend sind. Hierdurch können kleine Fehlerquellen entstehen und Schwankungen in den Mengenverhältnissen der Zersetzungsprodukte eintreten, da bei Luftzutritt, wie auch Emmerling (4) betont, mehr flüchtige Säure gebildet wird als bei Luftabschluß.

Zur Prüfung, ob die Säurebildung nur auf die Spaltung des Zuckers zurückzuführen sei oder ob sie auch infolge der Peptonzersetzung einträte, wurden in besonderen Versuchen nach dem oben beschriebenen Verfahren Peptonlösungen ohne Zuckerzusatz mit den verschiedenen Bakterien geimpft. Nach sechstägigem Stehen bei 37,5° waren die mit Bact. lactis aërogenes und Bact. coli geimpften Lösungen im geschlossenen Schenkel des Gärapparates nur bis in geringe Höhe des kugelförmigen Teiles schwach getrübt, im übrigen ganz klar; die mit den drei anderen Bakterienarten geimpften Peptonlösungen zeigten sehr schwache Trübung der ganzen Flüssigkeit. — Die Reaktion der getrübten Flüssigkeit war schwach alkalisch. Bei den verschiedenen Versuchen wurden zur Neutralisation von 50 ccm Peptonlösung 0,3—0,6 ccm $\frac{n}{10}$ HCl gebraucht. — Dieses Ergebnis bestätigt die Beobachtung von Smith, daß mit der Vermehrung der Bakterien bei Luftzutritt Alkalibildung verknüpft ist, andererseits beweist es, daß Säurebildung nur in Gegenwart des Zuckers, also infolge von Spaltungsvorgängen stattfindet.

War bei einigen Bakterien und bestimmten Konzentrationen der Zuckerlösung die Gasentwicklung sehr lebhaft, so wurde jedesmal, wenn eine bestimmte Grenze überschritten wurde, eine möglichst gleichgroße Gasmenge aus dem Apparat herausgenommen, so daß die weitere Umsetzung wieder

unter den anfangs herrschenden Bedingungen verlief. Die Gärungsdauer war nicht immer dieselbe, sondern abhängig vom Organismus, der Zuckerlösung und deren Konzentration. Der Verlauf der Umsetzung wurde nach der Menge des gebildeten Gases beurteilt. Ließ sich keine Zunahme des Gasvolumens mehr erkennen, so wurde der Versuch als beendet angesehen. In einzelnen Fällen, z. B. in Glukose- und Maltoselösungen nach der Einwirkung bestimmter Bakterien, klärte sich die Nährlösung durch Absetzen der Bakterienmassen.

Für das Aufhören der Gasbildung und der Umsetzung überhaupt kann es verschiedene Gründe geben: entweder werden die Bakterien durch die von ihnen selbst erzeugten Säuren abgetötet, — diese Annahme ist sehr verbreitet — oder ihr Umsetzungsvermögen wird wenigstens gehemmt; vielleicht kann auch die Erschöpfung des verfügbaren Stickstoffs die Ursache dieser Erscheinung sein.

Zur Untersuchung dieser Frage wurden besondere Versuche angestellt. Pepton-Kochsalzlösungen mit Zusatz von 5 Proz. der verschiedenen Zuckerarten wurden unter den gleichen Bedingungen wie bei den übrigen Versuchen hergestellt und im Gärkölbchen mit den verschiedenen Bakterien geimpft. Nach beendeter Umsetzung wurde viermal, und zwar am 7., 14., 21. und 28. Tage nach der Einsaat, mit der Platinöse ein Tröpfchen der Flüssigkeit aus den einzelnen Kölbchen entnommen und in Peptonwasser mit Zusatz von 1 Proz. Zucker gebracht. In gleicher Weise wurden die Lösungen mit hohem Zuckergehalt, in denen noch Gasbildung beobachtet worden war, also je nach der Zuckerart, 30—40-proz., behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß die Umimpfung in 1-proz. Lösungen nach 14, 21 und 28 Tagen erfolgte.

Dabei zeigte sich, daß 24 Stunden nach der ersten Umimpfung alle Bakterien Gas bildeten. Nach der zweiten Umimpfung wurde durch Bact. cloacae in den 1-proz. Lösungen aller vier Zuckerarten Gas gebildet, durch Bact. lactis aërogenes in Laktoselösung nicht, aber in den anderen Zuckerlösungen; Bact. coli und Bac. Fitzianus hatten gleichmäßig nur noch Glukose und Maltose vergoren, durch Bact. vulgare wurden die Lösungen nur getrübt. Nach drei Wochen langem Stehen hatte Bact. cloacae noch nicht die Fähigkeit der Zuckervergärung eingebüßt, es bildete in allen Zuckerlösungen Gas; Bact. lact. aërogenes wohl noch in Glukose-, Maltose- und Saccharoselösungen, aber nicht mehr in Laktose; Bac. Fitzianus und Bact. coli nur noch in Glukose. Die mit Bact. vulgare geimpften Lösungen blieben völlig klar, in den übrigen trat teilweise Trübung im aëroben Schenkel auf: also nur bei Luftzutritt noch Vermehrung. — Nach 28 Tagen blieben schließlich auch die mit Bact. cloacae und Bact. lactis aërogenes geimpften Lösungen entweder vollständig klar, oder sie waren nur im aëroben Schenkel schwach getrübt. In Plattenkulturen, die gleichzeitig aus den ursprünglichen Lösungen angelegt wurden, zeigten sich bei Bact. lactis aërogenes und Bact. cloacae nach mehreren Tagen keine oder höchstens 1—2 Keime auf der ganzen Platte; auf den mit den übrigen Bakterien geimpften Platten wurden keine Keime entdeckt.

In gleicher Weise wie in den geringer konzentrierter Zuckerlösungen wurde Spalttätigkeit und Vermehrung der Bakterien auch in den hochkonzentrierten gehemmt. Nach 14 Tagen bildeten Bact. cloacae und Bact. lactis aërogenes noch nach Wiederüberimpfung in 1-proz. Lösungen

Gas, die übrigen Organismen versagten, d. h. sie trübten die Lösungen nur, soweit Luftzutritt möglich war, ließen sie aber völlig unverändert. Nach 21 Tagen war nur Bact. cloacae noch fähig Zucker zu zersetzen, während die mit den übrigen Bakterien geimpften Lösungen vollständig klar blieben. Bei den Plattenkulturen wurden die entsprechenden Ergebnisse gefunden; nur einige wenige Keime von Bact. cloacae und Bact. lactis aërogenes zeigten noch Vermehrungsfähigkeit; denn es entstanden 1 oder 2 Kolonien auf der ganzen Platte. Die Platten, die mit den übrigen Bakterien gegossen waren, blieben ganz steril. —

Es geht also aus diesen Versuchen hervor, daß die in der vergorenen Zuckerlösung verbleibenden Bakterien abgetötet werden. Ob das Absterben auf die von ihnen selbst erzeugte Säure oder einen anderen Faktor zurückzuführen ist, muß dahingestellt bleiben; die Säuremenge ist im allgemeinen zu gering, um bakterizid zu wirken. Vielleicht spielen außer der Säure andere Stoffwechselprodukte sowie das langandauernde Abgeschlossensein vom Sauerstoff der Luft eine Rolle. Interessant ist, daß dem völligen Absterben der Bakterien zeitlich die Schwächung gewisser Lebensfunktionen vorausgeht. Für dieses Verhalten der Bakterien finden wir auch sonst Analoga. Wie hier zuerst das Gärvermögen erlischt, so verschwindet z. B. bei farbstoffbildenden Bakterien, wenn sie der schädlichen Einwirkung von Licht ausgesetzt werden, zuerst die Fähigkeit, Farbstoff zu bilden. Erst viel später folgt diesem Zeichen der Schwächung das völlige Absterben nach.

Waren in den Hauptversuchen also Gärungserscheinungen nicht mehr wahrzunehmen, so wurde der betreffende Apparat aus dem Brutschranke herausgenommen und zur Abkühlung auf die Temperatur des Arbeitsraums etwa 1 Stunde beiseite gestellt. Dann wurde das Gas dem Apparate entnommen und in eine Pettersson sche Gasbürette übergeleitet, die das Ablesen des Gasvolumens bei Druck- und Barometerkorrektion gestattet. Die Analyse selbst wurde nach den Angaben Hempels (33) ausgeführt, die Kohlensäure durch Kalilauge absorbiert, und der Wasserstoff mit Hilfe der Explosionspipette bestimmt. Zur Analyse von Gasmengen, die weniger als 10 ccm betrugen, stand mir ein zweiter Pettersson scher Apparat zur Verfügung.

Mit Ausnahme weniger Analysen wurde jedesmal ein kleiner Gasrest festgestellt, der sich beim Überleiten der nach der Wasserstoffbestimmung übrigbleibenden Gasmenge in Kalilauge nicht änderte. In einem Falle stieg dieser Rest bis zu einem Höchstbetrage von 1,75 Proz. an, überschritt aber im allgemeinen 1 Proz. nur um weniges. Wahrscheinlich handelt es sich um Stickstoff, denn jede Nährlösung hat mehr oder weniger Luft aufgenommen, deren Stickstoff bei der Zersetzung des Nährbodens frei wird.

Bei der Untersuchung der Nährlösung kam es vor allem darauf an, die quantitativen Bestimmungen möglichst rasch auszuführen, um einer weitergehenden Umsetzung der Zuckerlösungen nach Berührung mit der Luft vorzubeugen. Sterilisiert werden konnte die Zuckerlösung nach beendeter Gärung nicht, da neben der flüchtigen Säure immer auch Alkohol und Aceton vorhanden war; es müßte sich also an die Gasanalyse sogleich die Bestimmung der Säuren anschließen.

Zur Ermittelung der Gesamtsäure wurden 50 ccm der Nährlösung im Wasserbade auf 40–50° erwärmt und kurze Zeit unter Umschütteln auf dieser Temperatur erhalten, um die in Lösung befindliche Kohlensäure zu

verjagen. Dann wurde mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge titriert. Der Sättigungspunkt wurde durch Tüpfeln auf Azolithminpapier festgestellt.

Die Säure bestand aus Essigsäure und Milchsäure, zu denen in verschiedenen Versuchen Ameisensäure und Bernsteinsäure traten, jedoch in so geringen Mengen, daß ihre Bestimmung nicht ausgeführt werden konnte. Es wurde deshalb nur flüchtige und nichtflüchtige Säure unterschieden. Zu ihrer Trennung voneinander wurden 50 ccm Nährlösung in einem Destillierkolben solange erhitzt, bis etwa 25 ccm überdestilliert waren. Sodann wurde Dampf hindurchgeleitet, wobei darauf zu achten war, daß die Flüssigkeitsmenge im Destillierkolben immer etwa gleichgroß blieb. Das Durchleiten des Dampfstromes wurde beendet, sobald das Destillat 200 ccm betrug. Die Titration geschah in der gleichen Weise wie bei der Gesamtsäure. Die nichtflüchtige Säure wurde durch Subtraktion der zur Sättigung der flüchtigen Säure verbrauchten ccm $\frac{n}{10}$ Kalilauge von der Anzahl der zur Neutralisation der Gesamtsäure nötigen ccm $\frac{n}{10}$ Kalilauge ermittelt. Wie durch zahlreiche Kontrollanalysen festgestellt wurde, stimmten die auf diese Weise erzielten Ergebnisse sehr gut überein.

Die quantitative Bestimmung des nach beendeter Gärung noch vorhandenen Zuckers wurde nach dem gewichtsanalytischen Verfahren von Allihn ausgeführt, das ausgeschiedene Kupferoxydul im trockenen Luftstrome geglüht und als Kupferoxyd gewogen. Mit zunehmender Konzentration wurde die Zuckerlösung soweit verdünnt, daß die zur Analyse verwendete Verdünnung den Zuckergehalt von 1 Proz. nicht überstieg.

Diese Methode ließ sich bis zu einer Konzentration von 10 Proz., in einigen Fällen von 15 Proz. anwenden. Bei einem höheren Gehalt an Zucker war der Verbrauch zu gering, um sich in dieser Weise genau bestimmen zu lassen, außerdem riefen dann kleine Differenzen bei der zur Wägung gebrachten Kupferoxydmenge, wenn sie auch nur 1 mg oder Bruchteile eines mg betrugen, bei der Umrechnung auf den Prozentgehalt infolge der Multiplikation mit entsprechend höheren Zahlen auch größere Unterschiede hervor. Deshalb wurde in jeder Versuchsreihe der Zuckerverbrauch nur soweit hinauf bestimmt, als sich gut übereinstimmende Resultate ergaben.

Die übrigen nur teilweise oder in wechselnden Mengen auftretenden Stoffwechselprodukte wurden qualitativ bestimmt mit Hilfe der für jede Verbindung charakteristischen Reaktion.

Zur Prüfung auf Ameisensäure, Essigsäure, Alkohol und Aceton wurde das Destillat der Nährlösung verwendet, während für den Milchsäure- und Bernsteinsäurenachweis der Rückstand bei der Destillation benutzt wurde. Alkohol konnte ich bei allen Versuchen, wenn auch nur in geringen Mengen, nachweisen; wegen der Anwesenheit von Aceton ließ sich die Liebensche Jodoformreaktion nicht anwenden, ich führte den Nachweis nach Berthellot mit Benzoylchlorid durch Bildung von Äthylbenzoat. Für das Vorhandensein von Aceton sprach das Eintreten der Rotfärbung bei Anwendung von Nitroprussidnatrium. — Ameisensäure wurde in wenigen Fällen, und dann auch nur in Spuren, ermittelt; als Reagens diente Quecksilberoxyd, bez. die beim Erwärmen der filtrierten Lösung von Merkuriformiat erfolgende Ausscheidung von metallischem Quecksilber. Als charakteristisch für Essigsäure wurde die beim Versetzen des Destillates mit Eisenchlorid auftretende dunkelrote Färbung sowie der beim darauffolgenden Kochen entstehende rotbraune Niederschlag angesehen, der stets reichlich

vorhanden war. — Milchsäure wurde nach der von Nencki, Emmerling u. a. empfohlenen Methode der Überführung in das Zinksalz nachgewiesen. Statt des Ausschüttelns mit Äther wurde auch der von Foerster (34) beschriebene Apparat mit gutem Erfolge benutzt, bei dem durch eine sinnreiche Anordnung beliebig lange Zeit Äther durch die zu extrahierende Flüssigkeit geleitet werden konnte. — Um Bernsteinsäure, die nur in geringen Mengen vorhanden war, zu identifizieren, wurde die Überführung in bernsteinsaures Baryum gewählt.

Für den Indolnachweis konnten zwei Reaktionen in Betracht kommen, die von Salkowski-Kitasato (35) empfohlene und die Ehrlichsche. Die zuerst genannte beruht auf der Bildung von Nitrosoindol nach Zusatz einer schwachen Natriumnitritlösung und einigen Tropfen 10-proz. Schwefelsäure zu der indolhaltigen Flüssigkeit. Sie ist aber abhängig von den Mengenverhältnissen der aufeinander einwirkenden Substanzen, ein Nachteil, den die von Ehrlich angegebene Dimethylamidobenzaldehydreaktion nicht besitzt. Diese gründet sich darauf, daß p-Dimethylamidobenzaldehyd mit Indol unter Wasseraustritt zu einem Rosindol zusammentritt, das durch Kaliumpersulfat als Oxydationsmittel in einen intensiv roten Farbstoff übergeführt werden kann. Nach den übereinstimmenden Angaben von Böhme (36) und Crossonini (37) ist diese Reaktion bedeutend zuverlässiger als die ältere Salkowskische. Sie eignet sich in den von Böhme empfohlenen Mengenverhältnissen noch zum Nachweis äußerst geringer Spuren von Indol. Die früheren unsicheren Angaben über die Indolbildung lassen sich vielleicht durch das Fehlen einer so scharfen Reaktion erklären.

Skatol, das sich zuweilen unter den Zersetzungsprodukten eiweißhaltiger Stoffe findet und an einer vorübergehenden, intensiven Blaufärbung der zum Indolnachweise verwendeten Böhmeschen Lösungen kenntlich ist, konnte ich nicht nachweisen. Dagegen fand sich in einzelnen Fällen Schwefelwasserstoff, der schon am Geruche leicht erkenntlich war, Bleiacetatpapier bräunte und mit Nitroprussidnatrium in alkalischer Lösung vorübergehend schöne blaue Färbung gab.

Bei Ausführung der Versuche, deren Ergebnisse nachfolgend mitgeteilt werden, ließ ich mich anfangs von dem Gedanken leiten, die bakterielle Einwirkung auf die Zuckerlösungen bei ganz allmählich ansteigender Konzentration zu untersuchen. Über die Höhe der Konzentration, bis zu der sich die zersetzende Tätigkeit der Bakterien bemerkbar macht, lagen keine Angaben vor; E. Kohn (38) berichtet, daß verschiedene im Trinkwasser auftretende Bakterienarten noch in 15-proz. Traubenzuckerlösung Gärung hervorriefen, nach Mitteilungen von Hellström (39) und Smith war dagegen anzunehmen, daß bei gleichbleibendem Peptongehalt der Nährlösung mit zunehmender Zuckermenge sich sehr bald entwicklungshemmende Wirkungen zeigen würden. Wie indessen aus den folgenden Versuchen hervorgeht, war dies nicht der Fall, die Lebenstätigkeit der Bakterien erlosch zwar bei niederer Konzentration als die der Hefearten, aber die Grenzen völliger Entwicklungshemmung lagen doch wesentlich höher als nach den Literaturangaben vorauszusehen war. Sie sind abhängig von der Widerstandskraft des Organismus und der in Frage kommenden Zuckerart. Versuche mit Lösungen hoher Konzentration, also solchen, die 30—50 Proz. Zucker enthielten, wurden im Einhornschen Gärkölbchen angestellt, da es sich dann nur darum handelte, Eintritt oder Ausbleiben von Gärungs-

erscheinungen festzustellen. Die Herstellung größerer Lösungsmengen zu diesem Zweck, wie sie zur Füllung des Hofstädterschen Apparates notwendig waren, hätten die Versuche, besonders bei Verwendung von Maltose, erheblich verteuert.

Die zuerst untersuchten Spaltpilze waren Bact. coli commune und Bac. Fitzianus. In den mit diesen beiden Organismen angestellten Versuchen wurden bei niederen Konzentrationen Zwischenräume von $^1/_2$—1 Proz. eingeschaltet, bei höheren ließ ich, wenn der fortschreitende Verlauf deutlich zu erkennen war, größere Sprünge eintreten. Die Nährlösungen wurden sofort nach erfolgter Impfung der Versuchstemperatur von 37,5° ausgesetzt. Die Vermehrung und Verbreitung der Bakterien war äußerlich an zunehmender Trübung der Nährlösung zu erkennen, nach 6 Stunden war der anaërobe Schenkel vollständig getrübt und nach 20 Stunden hatte die Ansammlung des Gases begonnen; die Gasentwicklung selbst war am 2. Tage am lebhaftesten. Mit zunehmender Konzentration verzögerte sich das Eintreten dieser Merkmale, bis sie schließlich ganz ausblieben. In allen diesen Punkten zeigten beide Bakterien große Übereinstimmung.

Die nach der angegebenen Methode erzielten Ergebnisse sind in Tabellen zusammengestellt, aus denen sich das Verhalten der Organismen zu den verschiedenen Zuckerarten und bei wechselnder Konzentration deutlich ersehen läßt. Hierbei und in allen folgenden Tabellen ist das Volumen des bei den Umsetzungen entwickelten Gases in ccm, reduziert auf 0° und 760 mm Druck, angegeben. Die gebildete Säure ist überall durch die Anzahl ccm $\frac{n}{10}$ KOH ausgedrückt, die zur Sättigung der in 100 ccm Nährlösung vorhandenen Säuremenge nötig sind.

Bacterium coli commune.

Die Dauer der Umsetzung von Glukose durch diesen Organismus schwankt, wie aus Tabelle IV hervorgeht, zwischen 5 und 7 Tagen. Die Menge des entwickelten Gases steigt von 0,5 Proz. allmählich an, ist in

Tabelle IV.

Bacterium coli commune.
Glukose.

Zuckergehalt	Gärungsdauer	Gas				Zuckerverbrauch	Säure		
		Gesamtmenge	CO_2	H_2	Rest		Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
%		ccm	%	%	%	%			
0,5	5 Tage	84,7	31,25	67,23	1,52	72,76	13,62	4,40	9,22
1,0	„	83,9	30,39	68,58	1,03	48,16	13,76	4,04	9,72
2,0	„	78,6	30,57	68,23	1,20	30,98	12,90	4,56	8,94
3,0	„	84,2	30,28	68,43	1,29	27,39	13,24	5,23	8,01
4,0	„	88,9	31,04	67,43	1,53	fehlt	16,02	5,16	10,86
5,0	„	94,7	29,18	69,42	1,40	16,48	14,70	5,26	9,44
6,0	„	99,4	28,65	70,39	0,96	9,30	14,26	4,92	9,34
8,0	„	86,8	28,34	70,20	1,46	3,92	13,04	3,90	9,14
9,0	„	63,1	27,89	70,95	1,16	1,10	12,30	3,64	8,66
10,0	6 Tage	51,9	26,58	72,66	0,76	0,37	13,44	3,18	10,26
15,0	„	27,4	21,13	77,78	1,09	—	9,88	2,72	7,16
18,0	„	9,7	10,30	89,70	—	—	5,70	2,01	3,69
20,0	7 Tage	—	—	—	—	—	3,62	1,20	2,42
25,0	im Gärkölbchen	nach 8 Tagen unverändert.							

6-proz. Lösung am größten und fällt dann beständig. Bei 20 Proz. Glukose findet keine Gasbildung mehr statt. Der CO_2-Gehalt hält sich bis 4 Proz. in ziemlich gleicher Höhe und fällt mit abnehmender Gasmenge bis auf 10,3 Proz. in 18-proz. Lösung. Bei 20 Proz. Traubenzucker bleibt die Nährlösung völlig klar, nur auf dem Boden der offenen Kugel ist ganz schwaches Wachstum zu bemerken; Säurebildung läßt sich in geringem Maße feststellen. In 25-proz. Glukoselösung ist keine Einwirkung mehr zu beobachten, die Lösung ist nach 8 Tagen durchaus unverändert. Der Zucker wird in der schwächsten Lösung nicht vollständig, sondern nur zu etwa ¾ verbraucht. Bei 10 Proz. ist die vergorene Menge bereits äußerst gering und läßt sich bei höherer Konzentration nicht mehr bestimmen. Die Säurebildung weist kleine Schwankungen auf, sie erreicht den höchsten Wert bei 4 Proz. Zucker mit einer Säuremenge, die 16,02 ccm $\frac{n}{10}$ KOH entspricht, und läßt sich noch nachweisen, als keine Gasbildung mehr stattfindet. Das Verhältnis von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure liegt bei dieser Versuchsreihe in folgenden Grenzen:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
38,51	61,49
23,73	77,27

Alkohol und Aceton waren vorhanden, Indol ließ sich nicht nachweisen.

Diese Versuche bestätigen die Angabe von O. Torri (40), wonach nicht nur Lösungen von geringer Konzentration, sondern auch noch 8-proz. Glukoselösungen für Bact. coli und für andere Organismen vorzügliche Nährböden seien.

In maltosehaltigen Lösungen verliefen die Zersetzungserscheinungen lebhafter, wie sich aus Tabelle V ersehen läßt.

Tabelle V.
Bacterium coli commune.
Maltose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
0,5	5 Tage	79,0	30,25	68,46	1,29	66,24	11,45	4,12	7,33
1,0	„	97,6	33,55	66,05	0,40	40,76	12,90	6,04	6,86
1,5	„	98,0	33,06	66,12	0,82	31,72	14,14	5,62	8,52
2,0	„	95,6	32,32	66,82	0,86	22,68	14,14	6,04	8,10
3,0	„	81,1	30,94	67,86	1,20	19,40	13,20	5,36	7,84
4,0	„	105,9	33,44	65,25	1,31	17,10	14,44	6,42	8,02
5,0	„	134,1	34,82	64,40	0,78	14,93	14,86	7,26	7,60
6,0	„	128,5	34,11	64,47	1,42	13,02	15,24	7,88	7,36
7,0	„	91,3	31,86	67,38	0,76	12,27	14,56	7,52	7,04
8,0	„	99,1	32,08	66,56	1,36	10,79	13,78	6,82	6,96
10,0	„	67,8	28,90	70,06	1,04	9,59	11,86	4,72	7,14
12,0	6 Tage	53,7	26,07	72,64	1,29	5,48	9,54	4,10	4,44
14,0	„	14,2	13,66	85,35	0,99	2,20	7,40	2,94	4,46
16,0	7 Tage	13,0	11,36	87,94	0,70	—	6,88	2,26	5,12
18,0	10 Tage	Weg. Luftzutritt nicht ausgeführt				—	5,90	1,92	3,98
25,0	12 Tage	10,4	11,53	87,74	0,73	—	4,36	1,52	2,84
40,0	im Gär-	Gärung nach 16 Tagen beendet. Geringe Gasmenge. Säurebildung.							
50,0	kölbchen	Nach 14 Tagen unverändert.							

Die Gärungsdauer beträgt in dieser Reihe je nach der Konzentration 5—16 Tage. Die Menge des gebildeten Gases und ebenso der CO_2-Gehalt sind etwas höher als in Glukoselösungen, das Maximum der Gasbildung wird in 5-proz. Lösung zugleich mit dem Höchstgehalt des Gases an CO_2 erreicht. Mit zunehmender Konzentration verringert sich der CO_2-Gehalt; in 40-proz. Lösung wird nach 16 Tagen Gärungsdauer noch etwas Gas und Säure gebildet, die 50-proz. Maltoselösung ist nach 14 Tagen völlig unverändert. Bei der Gasanalyse werden, wie in allen Versuchsreihen, kleine Restbeträge ermittelt. Aus dem Zuckerverbrauche läßt sich entnehmen, daß die Zuckerspaltung in anderer Weise verläuft als in Glukoselösungen. Bei diesen ist der Betrag an verarbeitetem Zucker bei geringer Konzentration größer als in den entsprechenden Maltoselösungen, aber in jenen findet noch bei weit höherem Zuckergehalt Umsetzung statt. Die Säuremenge ist im allgemeinen nicht größer als bei Glukose, sie erreicht bei einem Gehalte von 6 Proz. Maltose ihren höchsten Wert, dem als Sättigungszahl 15,24 ccm $\frac{n}{10}$ KOH entsprechen. Im Verhältnisse von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure läßt sich eine Mehrbildung von Essigsäure feststellen. Die Grenzwerte, in denen sich die Zusammensetzung der Säure bewegt, sind folgende:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
51,72	48,28
32,20	67,80

Alkohol und Aceton, sowie Indol wurde in allen Versuchen reichlich gebildet.

In Tabelle VI sind die Ergebnisse der Einwirkung von Bact. coli auf Laktoselösungen zusammengestellt.

Tabelle VI.

Bacterium coli commune.

Laktose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas				Zuckerverbrauch %	Säure		
		Gesamtmenge ccm	CO_2 %	H_2 %	Rest %		Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
0,5	5 Tage	76,4	28,92	70,20	0,88	41,08	10,50	3,84	6,66
1,0	„	88,1	29,85	69,33	0,82	24,80	10,18	4,04	6,14
2,0	„	80,5	29,56	69,32	1,12	8,40	9,54	3,60	5,94
3,0	„	75,4	29,83	68,83	1,34	6,26	10,04	4,63	5,41
4,0	„	93,5	31,33	67,49	1,18	5,70	11,08	5,26	5,82
5,0	„	76,4	30,70	68,18	1,12	4,10	9,80	4,32	5,48
6,0	„	84,4	30,68	67,99	1,33	3,67	11,40	5,18	6,22
7,0	„	79,9	29,91	68,63	1,46	3,42	10,48	4,64	5,84
8,0	„	72,6	29,20	69.50	1,30	2,15	10,34	4,54	5,80
9,0	„	61,9	28,27	70,97	0,76	1,57	10,30	4,22	6,08
10,0	„	70,3	28,16	70,18	1,66	0,97	9,86	4,24	5,62
12,0	„	58,1	26,67	72,48	0,85	—	10,98	4,12	6,86
14,0	„	64,7	28,74	70,33	0,93	—	9,62	3,74	5,88
16,0	6 Tage	62,1	28,34	70,95	0,71	—	9,52	4,26	5,26
20,0	„	50,0	25,40	73,03	1,57	—	8,18	3,64	4,54

Bei diesen Versuchen ist die Umsetzung nach 5—6 Tagen beendet. Die Gasbildung erreicht mit 93,5 ccm ihre obere Grenze in 4-proz. Lösung, in der zugleich auch der CO_2-Gehalt des Gases am größten ist. Gasmenge und CO_2-Gehalt fallen in geringen Abstufungen. In 30-proz. Lösung krystal-

lisierte der Milchzucker aus der wiedererkalteten Nährlösung aus, so daß die Versuche dieser Reihe bei einer Konzentration von 20 Proz. abgeschlossen wurden, ohne daß damit die Grenze der Spaltfähigkeit des Bacteriums für Milchzucker erreicht wurde. Der Verbrauch an Zucker ist im allgemeinen gering, selbst in 0,5-proz. Lösung wird noch nicht die Hälfte zur Umsetzung verwendet. Der Höchstbetrag an Säure wurde in 4-proz. Lösung ermittelt. Die Säuremenge unterliegt nur geringen Schwankungen und nimmt erst von 14 Proz. Zucker an langsam ab. Die Grenzzahlen im Verhältnisse von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure sind folgende:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
36,19	63,81
47,27	53,73

Ameisensäure ließ sich in geringer Menge bei diesen Versuchen nachweisen, ebenso Alkohol und Aceton, Indol war nicht vorhanden.

In Rohrzuckerlösungen wurde durch Bact. coli keine Umsetzung hervorgerufen; in 1-proz. Lösung zeigte sich im offenen Schenkel nach 5 Tagen äußerst geringes Wachstum, die 2-proz. Lösung war noch nach 8 Tagen völlig unverändert.

Vergleicht man die Ergebnisse der Einwirkung von Bact. coli auf Glukose, Maltose und Laktose, so ergibt sich, daß Maltose der Umsetzung am zugänglichsten ist, die Spaltung des Laktose- und Glukosemoleküls dagegen in geringerem Maße eintritt. Bei Glukose erreicht die Säuremenge, bei Maltose der CO_2-Gehalt die höchsten Werte, die bedeutend höher liegen als in Laktoselösungen. Die schwächere Einwirkung des Organismus auf diese Zuckerart äußert sich ferner in dem geringeren Zuckerverbrauche, scheint aber andererseits unabhängiger von der Konzentration zu sein. In 4—6-proz. Lösung der verschiedenen Zuckerarten ist die Tätigkeit des Bact. coli am lebhaftesten.

Bacillus Fitzianus.

Über das Verhalten von Bac. Fitzianus zu den verschiedenen Zuckerarten geben die folgenden Tabellen Aufschluß. Die Ergebnisse der Zersetzung von Glukose läßt Tabelle VII erkennen.

Die Gärungsdauer schwankt bei diesen Versuchen zwischen 5 und 8 Tagen. Die Gasmenge ist in 4-proz. Glukoselösung am größten, der CO_2-Gehalt des Gases bei 7 Proz. am höchsten; in 30-proz. Glukoselösung ist noch Gasbildung zu beobachten. Der Zucker wird in 0,5-proz. Lösung in höherem Maße als in entsprechenden Lösungen anderer Zuckerarten angegriffen, aber auch hier nicht restlos verbraucht, nach der Gärung sind noch 13 Proz. unveränderter Glukose vorhanden. Verhältnismäßig hohe Werte ergibt die Säurebestimmung. In 7-proz. Lösung beträgt die der Säuremenge entsprechende Sättigungszahl 16,46 ccm $\frac{n}{10}$ KOH; ebenso ist der Betrag an flüchtiger Säure bei dieser Konzentration am höchsten. Verfolgt man die Zusammensetzung der Säure durch alle Konzentrationen, so läßt sich im Verhältnisse von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure unterschiedlich von anderen Versuchsreihen eine Annäherung der Säurezahlen feststellen, die am größten in 7-proz. Lösung ist, während Anfangs- und Endwerte dieser Reihe merklich tiefer bezw. höher liegen:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	34,25	65,75
7	46,29	53,71
20	36,69	63,31

Bei 30 Proz. Glukose ließ sich noch schwache Säurebildung nachweisen, erst die 40-proz. Lösung verhinderte das Wachstum des Bacillus vollständig.

Tabelle VII.
Bacillus Fitzianus.
Glukose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
0,5	5 Tage	94,8	32,08	66,53	1,39	87,00	14,56	5,30	9,26
1,0	„	83,0	30,98	67,78	1,24	43,93	14,86	5,09	9,77
1,5	„	97,3	32,68	65,65	1,67	39,41	15,62	5,61	10,01
2,0	„	73,9	30,04	68,82	1,14	34,23	15,50	4,58	10,92
3,0	„	81,0	28,38	70,24	1,38	29,12	15,70	6,98	8,72
4,0	„	113,0	35,08	63,48	1,44	22,55	16,10	6,50	9,60
5,0	„	110,4	35,03	63,63	1,34	16,87	16,24	6,84	9,40
6,0	„	101,8	35,38	63,37	1,25	9,60	16,28	7,14	9,14
7,0	„	107,6	36,69	62,02	1,29	4,55	16,46	7,62	8,84
10,0	6 Tage	86,4	31,99	66,46	1,55	1,26	13,13	4,86	8,27
15,0	7 Tage	58,3	28,30	70,44	1,26	—	10,44	3,91	6,53
20,0	„	44,7	27,29	71,57	1,14	—	8,72	3,20	5,52
30,0	im Gärkölbchen	Gärung nach 8 Tagen beendet. Geringe Gas- und Säurebildung.							
40,0		Nach 8 Tagen noch völlig unverändert.							

Alkohol und Aceton waren bei diesen Versuchen vorhanden, Indol dagegen nicht.

Besonders lebhaft war die Umsetzung in Maltoselösungen, wie aus der folgenden Tabelle VIII hervorgeht.

In dieser Reihe ist die Gärungsdauer bis 12 Proz. Maltose fünftägig. Mit zunehmender Konzentration verläuft der Spaltungsprozeß langsamer und erreicht mit 15 Tagen die längste Dauer. Bei Gas- und Säurebildung werden die oberen Grenzen in 7-proz. Lösung erreicht. Da in 20-proz. Lösung noch reichliche Gasentwicklung stattfand, wurde auch eine 30-proz. Maltoselösung der Einwirkung des Bacillus ausgesetzt. Dabei verlief die Umsetzung bedeutend langsamer, und die Gärprodukte nahmen beträchtlich ab. 50 Proz. Maltose verhindern die Entwicklung des Bacillus vollständig, denn nach 12 Tagen ist in solchen Lösungen noch kein Wachstum zu erkennen. Der Zuckerverbrauch ist in 0,5-proz. Lösung im Verhältnisse zur entsprechenden Glukoselösung geringer, läßt sich aber noch bis zu 18 Proz. mit Sicherheit bestimmen. Die Zusammensetzung der Säure wechselt mit der Konzentration der Lösung, indem bei niederem und sehr hohem Zuckergehalt mehr Milchsäure gebildet wird, während in Lösungen von mittlerer Konzentration Essigsäure den Hauptbestandteil ausmacht. Als Grenzwerte ergaben sich:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
0,5	37,55	62,45
6,0	57,96	42,04
30,0	33,03	66,97

Der Nachweis von Alkohol, Aceton und ebenso von Indol war positiv.

Tabelle VIII.
Bacillus Fitzianus.
Maltose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
0,5	5 Tage	87,4	34,73	63,42	1,75	61,84	12,62	4,74	7,88
1,0	„	97,1	33,29	66,03	0,68	58,16	12,09	4,82	7,27
2,0	„	96,1	32,77	66,38	0,85	46,56	12,17	4,84	7,33
3,0	„	113,1	34,74	65,15	1,11	16,32	13,91	7,22	6,69
4,0	„	118,0	36,02	62,62	1,36	14,65	14,98	7,22	7,76
5,0	„	115,5	34,47	63,93	1,60	12,79	14,06	6,69	7,37
6,0	„	153,1	36,05	62,84	1,11	11,26	13,56	7,86	5,70
7,0	„	159,8	37,13	61,84	1,03	10,67	15,34	8,68	6,66
8,0	„	144,6	36,35	63,19	0,46	9,75	15,16	8,38	6,78
10,0	„	139,3	36,37	62,47	1,16	8,40	15,24	8,28	6,96
12,0	„	101,3	33,02	66,05	0,93	6,02	8,74	4,82	3,92
15,0	6 Tage	95,5	32,67	66,67	0,66	4,43	9,18	4,80	4,38
18,0	8 Tage	83,2	34,85	63,97	1,18	1,44	12,64	5,61	7,03
20,0	„	75,0	33,33	65,61	1,06	—	10,86	5,28	5,68
30,0	14 Tage	13,1	14,50	84,88	0,62	—	3,74	1,24	2,50
40,0	im Gär-	Gärung nach 15 Tagen beendet. Gas- und Säurebildung gering.							
50,0	kölbchen	Nach 12 Tagen noch unverändert.							

In Tabelle IX ist der Verlauf der Umsetzung von Laktoselösungen dargestellt, die durch Bac. Fitzianus stärker als durch Bact. coli angegriffen werden. Der Umsetzungsprozeß erstreckt sich, je nach der Konzentration, über 5—6 Tage. In 6-proz. Lösung ist die Spaltung des Zuckers bis zu Kohlensäure und Wasserstoff am energischsten; die Säurebildung erreicht bei 4 Proz. Laktose ihren Höhepunkt. Der CO_2-Gehalt des Gases steigt bis 37,7 Proz., ist also höher als bei Bact. coli. In der Zusammensetzung der Säure zeigen sich geringe Schwankungen, es ergibt sich stets ein Mehrgehalt von Milchsäure, der sich aber mit steigender Konzentration der Zuckerlösung verringert:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
0,5	42,75	57,25
25,0	48,71	51,29

Aceton und Alkohol waren in kleinen Mengen vorhanden, Indol konnte in dieser Reihe nicht nachgewiesen werden.

In Rohrzuckerlösungen wurde keine Veränderung durch Bac. Fitzianus beobachtet, die 1-proz. Lösung war nach 5 Tagen noch durchaus klar. In dieser Beziehung verhielt sich der Organismus wie Bact. coli.

Tabelle IX.
Bacillus Fitzianus.
Laktose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
0,5	5 Tage	93,5	32,83	65,72	1,45	52,24	10,76	4,60	6,16
1,0	„	95,5	34,13	64,65	1,22	40,28	11,72	5,08	6,64
1,5	„	95,1	34,12	64,65	1,23	16,96	12,26	4,60	7,66
2,0	„	87,9	37,20	61,51	1,29	12,48	12,48	5,01	7,47
2,5	„	101,5	35,59	63,21	1,20	10,72	12,56	4,82	7,74
3,0	„	103,3	37,70	60,67	1,63	9,22	13,64	5,62	8,02
4,0	„	122,5	37,31	62,09	0,60	7,40	14,36	6,50	7,86
5,0	„	124,7	35,20	63,30	1,50	5,92	13,38	5,98	7,40
6,0	„	135,9	36,64	62,51	0,85	4,82	13,72	5,78	7,94
7,0	„	127,7	35,51	63,31	1,18	3,59	13,46	6,10	7,36
8,0	„	114,6	35,57	62,85	1,58	2,31	13,02	5,88	7,14
10,0	„	115,0	34,54	64,17	1,29	0,60	12,48	5,78	6,70
12,0	„	100,9	32,94	66,70	1,36	—	13,02	5,60	7,42
14,0	„	97,1	32,06	66,36	1,58	—	13,56	5,34	8,22
16,0	„	79,1	31,65	66,97	1,38	—	13,20	5,17	8,13
20,0	6 Tage	80,0	30,12	69,06	0,82	—	11,02	5,00	6,02
25,0	„	69,5	30,07	68,87	1,06	—	7,78	3,79	3,99

Beim Vergleichen der Ergebnisse der Umsetzungen von Glukose, Maltose und Laktose durch Bac. Fitzianus ergeben sich merkliche Unterschiede. Die produzierte Säuremenge ist in Glukoselösungen am größten, in Laktoselösungen am kleinsten. Während bei Glukose und Maltose Zunahme der flüchtigen Säure bis zu einem Maximum und darauffolgend Abnahme stattfindet, ist dies bei Laktoselösungen nicht der Fall. Aus dem Zuckerverbrauche läßt sich auf die schwerere oder leichtere Zersetzbarkeit der einzelnen Zuckerarten durch den Bacillus schließen. Betrachtet man z B. die 7-proz. Lösung der drei Kohlehydrate, in der die Umsetzung sehr weit vor sich geht, so findet sich nach beendeter Gärung bei Laktose 96, 41 Proz., bei Glukose 95,45 Proz. und bei Maltose 89,33 Proz. unveränderten Zuckers. Bei höherer Konzentration, in 15-proz. Lösung, ist der Zuckerverbrauch bei Laktose und Glukose äußerst gering, während er bei Maltose noch 4,43 Proz. beträgt. Gänzliche Entwicklungshemmung tritt in Gegenwart von Glukose in 40-proz. Lösung, von Maltose in 50-proz. Lösung ein. Am günstigsten für Wachstum und Spaltfähigkeit des Bac. Fitzianus erweisen sich Lösungen von 4—7 Proz. der verschiedenen Zuckerarten.

Bei den soeben beschriebenen Versuchen steigerte ich die Konzentration der Zuckerlösungen in kleinen Abstufungen, wobei der Verlauf der Umsetzungen, Zunahme und Abnahme der Stoffwechselprodukte, bei zwei dicht aufeinanderfolgenden Versuchen in den meisten Fällen nur sehr geringe Unterschiede ergab. Ein übersichtlicheres Bild von dem Grade der bakteriellen Einwirkung ließ sich gewinnen, wenn bei Steigerung der Konzentration einige Zwischenstufen ausgeschaltet wurden, wie es schon in den vorangehenden Versuchsreihen bei hohem Zuckergehalte geschehen war. Da sich ferner die Versuche mit zunehmender Konzentration, besonders bei Anwendung von Maltose, erheblich verteuerten, ließ ich in den folgenden Reihen gleichmäßig größere Zwischenräume zwischen zwei Versuchen ein-

treten. Bei dieser Anordnung wurde zwar die Anzahl der Versuche verringert, ich konnte aber ein weiteres Bacterium zur Untersuchung heranziehen.

Bacterium vulgare.

Die nächsten Tabellen enthalten die Ergebnisse der Spalttätigkeit des Bact. vulgare.

Tabelle X.
Bacterium vulgare.
Glukose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
1,0	7 Tage	3,25	12,92	87,08	—	14,37	6,76	3,20	3,65
5,0	12 Tage	25,50	15,68	83,56	0,76	1,76	6,58	1,87	4,71
10,0	„	26,00	22,69	76,46	0,85	—	9,08	1,74	7,34
15,0	„	22,00	18,63	80,53	0,84	—	7,30	1,78	5,52
20,0	„	11,35	14,00	86,00	—	—	4,28	0,84	3,44
30,0	im Gärkölbchen	nach 12 Tagen unverändert.							

Tabelle X läßt die Gärung von Traubenzucker durch dieses Bacterium erkennen. Sie ist nach 7—12 Tagen beendet, verläuft also schon in Lösungen von niederer Konzentration langsamer als bei Einwirkung der vorher untersuchten Organismen auf Glukose. Die Gasmenge erreicht mit 26 ccm in 10-proz. Lösung die obere Grenze. Bei derselben Konzentration ist auch der CO_2-Gehalt des Gases am größten, bleibt aber in allen Versuchen hinter dem Betrage weit zurück, der mit Hilfe des Bact. coli und Bac. Fitzianus gefunden wurde. Der Zuckerverbrauch in 1-proz. Lösung ist nur gering, ebenso ist der der größten Säuremenge entsprechende Sättigungswert — 9,08 ccm $\frac{n}{10}$ KOH — wesentlich kleiner als in den bisherigen Reihen. In der Zusammensetzung überwiegt die nichtflüchtige Säure. Sie nimmt mit steigender Konzentration der Zuckerlösung erheblich zu:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	47,33	52,27
20	19,62	80,38

Die Alkohol- und Acetonreaktion war sehr schwach, Schwefelwasserstoff wurde dagegen bei allen Versuchen in Spuren nachgewiesen, Indol erst in Lösungen von 10 Proz. Glukose an aufwärts und da in geringen Mengen.

Die Umsetzung von Maltose durch Bact. vulgare — siehe Tabelle XI — ist, wie die bei Gas- und Säurebestimmung erhaltenen Werte erkennen lassen, insofern verschieden von der Glukosegärung, als die gebildeten Gasmengen durchgehends etwas größer, die Säurezahlen kleiner als die bei Traubenzucker festgestellten sind. Die Gärungsdauer beträgt 12 bis 16 Tage; am weitesten geht der Umsetzungsprozeß in 10-proz. Lösung, worin die Gasmenge 32,9 ccm, der CO_2-Gehalt 23,4 Proz. erreicht. In derselben Lösung ist auch die meiste Säure vorhanden. Der Zuckerverbrauch

Tabelle XI.
Bacterium vulgare.
Maltose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
1,0	12 Tage	15,0	13,33	85,14	1,53	20,37	3,06	1,83	1,23
5,0	14 Tage	29,3	18,08	80,70	1,22	7,83	4,26	2,30	1,94
10,0	„	32,9	23,40	75,46	1,14	4,34	6,50	3,46	3,04
15,0	16 Tage	30,4	18,75	80,03	1,22	0,07	4,44	2,26	2,18
20,0	„	27,1	17,71	81,19	0,90	—	3,88	1,92	1,96
30,0	im Gär-	Gärung nach 16 Tagen beendet. Kleine Gasblase, schwach sauer.							
40,0	kölbchen	Nach 14 Tagen unverändert.							

läßt sich, wie gewöhnlich in Maltoselösungen, noch bei höherem Gehalt feststellen. In 40-proz. Lösung sind keine Wachstums- und Zersetzungserscheinungen mehr erkennbar. Das Mengenverhältnis von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure nähert sich mit steigender Konzentration der Zuckerlösung immer mehr:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	59,80	40,20
20	49,48	50,52

Alkohol und Aceton konnten bei allen Versuchen, wenn auch nur in geringen Mengen, Indol jedoch überall reichlich nachgewiesen werden; Schwefelwasserstoffbildung trat überall auf, am stärksten in der 10-proz. Lösung.

Laktose wurde von Bact. vulgare nicht angegriffen. Nach 10-tägiger Beobachtungsdauer war die 1-proz. Lösung im anaëroben Schenkel des Hofstädterschen Apparates vollständig klar, im offenen Schenkel war nur ganz schwaches Wachstum bemerkbar. Dieses Ergebnis stimmt mit der Angabe von Smith (4) überein.

Tabelle XII.
Bacterium vulgare.
Saccharose.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
1,0	7 Tage	8,35	10,77	89,23	—	24,37	4,94	1,06	3,88
5,0	14 Tage	22,30	30,49	68,58	0,93	1,62	9,24	5,52	3,72
10,0	„	27,00	20,37	78,82	0,81	—	7,22	2,31	4,91
15,0	15 Tage	18,50	19,45	79,89	0,66	—	8,22	4,28	3,94
20,0	16 Tage	10,65	16,43	83,57	—	—	3,44	1,00	2,44
30,0	im Gär-	Gärung nach 15 Tagen beendet. Geringe Gas- und Säurebildung.							
40,0	kölbchen	Nach 14 Tagen unverändert.							

Tabelle XII enthält die Ergebnisse der Saccharoseumsetzung. Die Beobachtungsdauer schwankte zwischen 7 und 16 Tagen. Äußerlich macht

sich ein Unterschied von den Glukose- und Maltoselösungen insofern bemerkbar, als das Wachstum der Bakterien in Saccharose viel geringer ist, und die in dem Verbindungsstück zwischen beiden Schenkeln des Apparates abgelagerte Bakterienmasse sich schwach rötlich färbte. Die Spaltprodukte halten sich etwa in den gleichen Grenzen wie bei Glukose und Maltose. Es beträgt die größte Gasmenge 27 ccm, und der CO_2-Gehalt erreicht mit 30,49 Proz. das Maximum in der 5-proz. Lösung. Sehr schwache Gas- und Säurebildung war noch in 30-proz. Lösung wahrnehmbar, bei 40 Proz. Rohrzucker blieb die Lösung unverändert. Die Menge des unzersetzten Zuckers entspricht den bisher bei Maltose und Glukose gemachten Beobachtungen. Der dem Höchstbetrage an Säure entsprechende Sättigungswert ist 9,24 ccm $\frac{n}{10}$ KOH, ihre Zusammensetzung selbst liegt innerhalb folgender Grenzen:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
21,45	78,55
59,74	40,26

Alkohol und Aceton waren vorhanden, Schwefelwasserstoff und Indol wurden bei jedem Versuche nachgewiesen; besonders reichlich waren beide Stoffe in 5- und 10-proz. Lösung vorhanden.

Diese drei letzten Versuchsreihen lassen erkennen, daß von den drei Zuckerarten wiederum Maltose für Wachstum und Spaltvermögen des Bact. vulgare am günstigsten zu sein scheint, geben aber auch gleichzeitig ein Bild von den gleichmäßig schwachen Leistungen dieses Mikroorganismus hinsichtlich der Zuckerspaltung bei Verwendung von Pepton als Stickstoffquelle. Diese meine Ergebnisse stehen im Widerspruche zu den oben erwähnten Angaben von Smith, der gerade bei Proteus sehr starke Gasbildung beobachtete. Nach meinen Befunden nimmt er unter den untersuchten Spaltpilzen als Gärungserreger die letzte Stelle ein.

Die Ursache dieses abweichenden Verhaltens ist wohl darin zu suchen, daß die von mir gewählten Bedingungen diesem Bacterium nicht zusagen, während es bei anderer Versuchsanordnung und vorteilhafterem Nährboden eine energischere Tätigkeit entfalten würde. Diese Annahme bestätigten vergleichsweise angestellte Versuche, bei denen Fleischbouillon-Nährlösungen mit einem Gehalte von 5 Proz. der verschiedenen Zuckerarten angewendet wurden. Bei allen diesen Versuchen war die Entwicklung der Bakterien reichlicher, und bereits nach 24 Stunden Gasbildung eingetreten, während in den entsprechenden Peptonlösungen die Vermehrung langsamer vor sich ging, und Gasbildung erst nach 3 und 4 Tagen beobachtet wurde.

Bacterium cloacae (Jordan).

Bedeutend lebhafter als bei Einwirkung des Bact. vulgare verlief die durch Bact. cloacae J. verursachte Umsetzung. Von diesem Organismus wurden alle vier Zuckerarten angegriffen. 12—18 Stunden nach der Impfung, also zeitiger als bei den übrigen Bakterien, begann die Gasentwicklung, meist unter Schaumbildung und so heftig, daß schon nach 24 oder 30 Stunden größere Gasmengen entnommen werden mußten. Je nach der Zuckerart und Konzentration war es nötig, die Gasentnahme während eines Versuches mehrmals zu wiederholen, wobei jedesmal der CO_2-Gehalt der entnommenen Gasmenge bestimmt wurde. Bei fortschreitender Umsetzung ergab sich hierbei eine Zunahme der Kohlensäure im Verhältnis zu Wasserstoff, die zum Teil auf die zunehmende Sättigung der Nährlösung

mit Kohlensäure bei Beginn der Gasentwicklung, zum Teil auf den Umsetzungsprozeß selbst zurückzuführen ist, dessen Verlauf von dem bei den vorher untersuchten Spaltpilzen wesentlich abweicht. Der Höchstbetrag an CO_2 wurde in den meisten Fällen nach beendeter Gärung erreicht, zuweilen schon nach 2, 3 oder 4 Tagen, und dann zeigte sich eine geringe Abnahme bei der Analyse der letzten Gasmenge. Verlauf und Dauer der Zuckerspaltung gehen aus den folgenden Tabellen hervor, von denen die mit b bezeichneten stets die Zusammensetzung der zuletzt entnommenen Gasmengen angeben.

Tabelle XIII.

Bacterium cloacae (Jordan).

Glukose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmenge in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	6 Tagen	7 Tagen	8 Tagen	9 Tagen	11 Tagen	Gesamtgasmenge ccm
1,0	—	164,1	89,7	—	124,6	—	—	—	—	378,4
5,0	90,2	140,0	—	—	—	125,7	—	—	—	355,9
10,0	—	122,8	—	86,7	—	—	117,9	—	—	326,5
15,0	—	147,0	—	—	—	—	83,7	42,6	—	273,3
20,0	—	—	83,7	—	—	—	—	—	61,4	175,1
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %									
1,0	—	63,25	70,67	—	70,29	—	—	—	—	
5,0	59,20	68,57	—	—	—	66,82	—	—	—	
10,0	—	61,19	—	68,74	—	—	66,74	—	—	
15,0	—	64,18	—	—	—	—	66,54	64,31	—	
20,0	—	—	58,30	—	—	—	—	—	70,52	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	70,29	29,19	0,52	95,20	7,04	0,56	6,48
5,0	66,82	33,00	1,18	16,58	9,80	1,96	7,84
10,0	66,74	32,33	0,93	4,68	7,74	0,80	6,94
15,0	64,31	35,69	—	2,69	7,21	0,62	6,59
20,0	70,52	29,53	0,95	—	5,78	0,84	4,94
30,0	im Gärkölbchen	Gärung nach 12 Tagen beendet. Gas- und Säurebildung.					
40,0		Nach 10 Tagen unverändert.					

Tabelle XIII zeigt die Einwirkung von Bact. cloacae auf Glukose. In XIIIa ist die entwickelte Gasmenge, sowie der CO_2-Gehalt aufgeführt; XIIIb gibt die Analyse des Gases und der Zuckerlösung nach beendeter Gärung wieder. Es zeigt sich, daß das Spaltvermögen dieses Pilzes im Vergleiche zu den bisher beobachteten bedeutend stärker ist, und daß der Abbauprozeß des Traubenzuckers infolgedessen von dem bisherigen Grade der Gärungserscheinungen abweicht. Die reichliche Gasbildung läßt schon äußerlich auf weitgehende Zuckerspaltung schließen, und die Bestimmung des nach der Umsetzung noch vorhandenen Zuckers bestätigt diese Annahme. Der CO_2-Gehalt des Gases ist bei diesen Versuchen sehr

hoch, das Verhältnis von $CO_2 : H_2$ nahezu umgekehrt als bei Einwirkung des Bact. coli oder des Bac. Fitzianus auf Glukose.

Dieser Befund entspricht den Angaben von Smith, der bei seinen Versuchen mit Bact. cloacae dieselbe Zusammensetzung des Gases beobachtet hat.

In Zusammenhang damit steht durchgehends ein geringer Betrag an flüchtiger Säure, die in dieser Versuchsreihe im Verhältnisse zur nichtflüchtigen Säure zwischen folgenden Grenzen lag:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
7,95	92,05
20,00	80,00

Die Menge der Gesamtsäure ist in 5-proz. Lösung am größten, im Vergleiche zu Tabellen IV und VII aber als mäßig groß zu bezeichnen. In 30-proz. Lösung wurde noch Gas entwickelt, bei 40 Proz. war keine Veränderung der Lösung mehr zu bemerken.

Alkohol war in geringen Mengen, Aceton ziemlich reichlich vorhanden, Schwefelwasserstoff und Indol konnten dagegen nicht nachgewiesen werden.

Die Umsetzung von Maltose erfolgte ebenfalls unter lebhaften, aber nicht so heftigen Gärungserscheinungen wie die Glukosespaltung, von der

Tabelle XIV.

Bacterium cloacae (Jordan).

Maltose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmengen in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	4 Tagen	7 Tagen	8 Tagen	Gesamt-Gasmenge ccm
1,0	—	138,6	—	53,3	—	191,9
5,0	—	153,7	—	56,1	—	209,8
10,0	—	90,0	77,3	—	55,9	223,2
15,0	80,1	73,8	—	—	27,1	181,0
20,0	47,3	—	—	—	81,1	128,4
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %					
1,0	—	—	—	55,90	—	
5,0	—	51,94	—	56,50	—	
10,0	—	47,00	70,24	—	68,68	
15,0	29,71	41,32	—	—	40,59	
20,0	21,56	—	—	—	37,97	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	55,90	43,26	0,84	52,93	9,08	3,70	5,38
5,0	56,50	42,10	1,40	15,41	9,00	3,94	5,06
10,0	68,68	30,54	0,78	1,17	8,82	4,10	4,72
15,0	40,59	58,56	0,85	—	23,98	10,24	13,74
20,0	37,97	60,63	1,40	—	11,08	6,20	4,88
30,0	im	Gärung nach 8 Tagen beendet.			Reichliche Gasbildung.		
40,0	Gär-	„ „ 10 „ „ .			Gas- und Säurebildung.		
50,0	kölbchen	Nach 10 Tagen unverändert.					

sie sich im übrigen durch die kürzere Gärungsdauer — 7 bis 8 Tage — und die Mengenverhältnisse ihrer Produkte unterscheidet, wie aus Tabelle XIV zu ersehen ist.

Nach XIVa ist die Gasmenge und der CO_2-Gehalt des Gases in 10-proz. Lösung am größten. Der Zuckerverbrauch — siehe XIVb — übersteigt bei der schwächsten Konzentration nur wenig die Hälfte des dargebotenen Zuckers. Der Betrag an Gesamtsäure ist am höchsten in der 15-proz. Lösung, und zwar so hoch, wie er sonst nicht beobachtet wurde. Der Gehalt an flüchtiger Säure im Verhältnisse zur nichtflüchtigen ist höher als in Glukoselösungen, am höchsten in 20-proz. Lösung, in der der CO_2-Gehalt des Gases andererseits den niedrigsten Wert besitzt:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	40,73	59,27
20	55,95	44,05

In 30- und 40-proz. Lösung wird noch Gasbildung beobachtet, erst bei 50-proz. Maltose wird die Lösung nicht mehr verändert.

Aceton- und Alkoholbildung ließ sich bei diesen Versuchen nachweisen, Schwefelwasserstoff und Indol waren nicht vorhanden.

Über das Verhalten des Bact. cloacae zu Laktose liegen, wie oben erwähnt, in der Literatur widersprechende Mitteilungen vor; die Ergebnisse der von mir angestellten Versuche bestätigen nur zum Teil die Smithschen Angaben, wonach dieses Bacterium wohl Gas bildet und somit Milchzucker zersetzt, daß der Umsetzungsprozeß aber langsamer als bei anderen Zuckerarten verläuft. Wie sich aus Tabelle XV ersehen läßt, trifft diese Behauptung nur für höhere Konzentrationen zu, in der 1-proz. Lösung unterscheiden sich die Gärungserscheinungen an Intensität nicht von denen, die bei anderen Zuckerarten beobachtet wurden.

Tabelle XV.

Bacterium cloacae (Jordan).

Lactose.

a) Gasentnahme aus der 1 %igen Lösung während der Umsetzung.

Entnommene Gasmengen	nach 1 Tage 88,1 ccm	2 Tagen 91,0 ccm	7 Tagen 37,6 ccm	Gesamtmenge 216,7 ccm
CO_2-Gehalt	55,39 %	67,02 %	61,43 %	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gärungsdauer	Gas: Gesamtmenge ccm	Gas: CO_2 %	Gas: H_2 %	Gas: Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure: Gesamtmenge	Säure: Flüchtige Säure	Säure: Nichtflüchtige Säure
1,0	7 Tage	216,7	61,43	37,41	1,16	14,35	10,44	3,38	6,06
5,0	„	82,0	22,19	76,84	0,97	2,89	12,06	5,88	6,18
10,0	8 Tage	75,4	25,33	73,17	1,50	—	10,68	5,42	5,26
15,0	9 Tage	69,1	24,02	74,98	1,00	—	9,26	4,72	4,54
20,0	11 Tage	56,8	22,35	76,53	1,12	—	9,50	4,54	4,96

Keinesfalls lassen sich die von Stokes und Stoner (15) mitgeteilten Beobachtungen aufrecht erhalten, daß Bact. cloacae bei Anwendung von Laktose kein Gas bilde.

Die Beobachtungszeit schwankt in dieser Versuchsreihe zwischen 7 und 11 Tagen. Bei 1 Proz. Laktose ist die Gärung sehr lebhaft. Sie setzt zeitig ein und erreicht rasch ihren Höhepunkt. Das Verhältnis von CO_2 : H_2 ist etwa wie 2:1. Der Betrag an flüchtiger Säure ist bei dieser Konzentration gering.

Von 5 Proz. Laktose an aufwärts vermindert sich die Spaltkraft des Bacteriums auffällig. Die gebildete Gasmenge — von 82,0 ccm bis 56,8 ccm fallend — ist gering, ihr CO_2-Gehalt gleichmäßig niedrig, das Verhältnis von CO_2 : H_2 kehrt sich bei diesen höheren Konzentrationen um und ist etwa 1 : 3. Der Betrag an flüchtiger Säure ist gestiegen, die Grenzwerte in der Zusammensetzung der Säure nähern sich mit steigendem Zuckergehalte deutlich:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	32,37	67,63
15	50,96	49,04

Alkohol fand sich immer, Aceton stets sehr reichlich. Weder Schwefelwasserstoff noch Indol wurde nachgewiesen.

In Saccharoselösungen geht der Umsetzungsprozeß äußerst lebhaft vor sich, sein Verlauf ist aus Tabelle XVI zu ersehen.

Tabelle XVI.

Bacterium cloacae (Jordan).

Saccharose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmengen in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	6 Tagen	7 Tagen	8 Tagen	10 Tagen	Gesamtgasmenge ccm
1,0	—	82,7	—	—	—	73,2	—	—	155,9
5,0	78,5	—	89,2	86,7	—	83,0	71,4	—	408,8
10,0	86,9	84,0	85,5	—	—	—	107,6	—	364,0
15,0	—	117,4	—	87,9	83,7	87,7	—	83,1	459,0
20,0	—	80,6	—	87,5	—	—	—	91,8	279,9
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %								
1,0	—	71,34	—	—	—	75,54	—	—	
5,0	54,52	—	69,17	74,74	—	70,96	67,64	—	
10,0	58,21	68,92	72,28	—	—	—	74,45	—	
15,0	—	58,38	—	72,12	73,71	74,11	—	73,40	
20,0	—	54,46	—	71,77	—	—	—	72,50	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	75,54	23,35	1,11	91,75	8,62	0,71	7,91
5,0	67,64	31,42	0,94	18,12	9,34	1,08	8,26
10,0	74,45	24,26	1,29	4,83	8,10	1,13	7,41
15,0	73,40	25,44	1,16	2,80	11,08	1,08	10,00
20,0	72,52	26,64	0,84	—	7,30	1,08	6,22
30,0	Im	Gärung nach 11 Tagen beendet.			Reichliche Gasbildung.		
40,0	Gär-	Gärung nach 12 Tagen beendet.			Gas- und Säurebildung.		
50,0	kölbchen	Nach 10 Tagen unverändert.					

Je nach der Konzentration ist die Gärung nach 7—10 Tagen beendet, nachdem reichlich Gas gebildet worden ist. Der Gang der Gasbildung kann nach den in Tabelle XVIa mitgeteilten Werten beurteilt werden. Der CO_2-Gehalt des Gases steigt bis zu 75,5 Proz. an, verhält sich also zu H_2 fast durchgehends wie 3 : 1, und ist in der Zusammensetzung unabhängig von der Konzentration der Lösung. In Zusammenhang damit ergeben sich bei Bestimmung der Säure mäßig hohe Beträge; die größte Säuremenge wurde in 15-proz. Lösung gefunden, einem Sättigungswert von 11,08 ccm $\frac{n}{10}$ K O H entsprechend. Der Gehalt an flüchtiger Säure ist wie in Glukoselösungen sehr gering, die Zusammensetzung der Säure ändert sich mit steigendem Zuckergehalt:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	8,14	91,86
20	14,79	85,21

30- und 40-proz. Lösungen werden in geringerem Umfange von dem Bacterium angegriffen, erst die 50-proz. Saccharoselösung bleibt unverändert.

Alkohol und Aceton waren bei jedem Versuche nachweisbar, Indol wurde nicht gebildet.

Betrachtet man die Ergebnisse der mit Bact. cloacae vorgenommenen Versuche, so läßt sich eine deutliche Abstufung in der Zugänglichkeit der verschiedenen Zuckerarten für diesen Organismus feststellen. Der Spaltungsprozeß der Saccharose verläuft am energischsten. Vollständige Oxydation der Umsetzungsprodukte findet zwar auch hier nicht statt, aber die Zerlegung dieses Zuckers bis zu Kohlensäure und Wasserstoff erreicht die höchsten Grade unter den bisher beobachteten Versuchen. Der Saccharose sehr nahe hinsichtlich der erzeugten Gasmenge und deren Zusammensetzung steht die Glukose. Bei beiden Zuckerarten weist der Zuckerverbrauch durch alle Konzentrationen hindurch in den entsprechenden Lösungen ziemlich die gleichen Mengen auf; auch die Säurebildung bewegt sich in ähnlicher Weise in gleichen Grenzen. In beträchtlichem Abstande folgen die Ergebnisse der Einwirkung auf Maltose. Hier erreichen Gasmenge und CO_2-Gehalt nur bei günstigster Konzentration, in 10-proz. Lösung, etwa die gleiche Höhe wie bei Traubenzucker, im übrigen steht die Spalttätigkeit des Organismus zurück. Bei höherem Maltosegehalt tritt die Säurebildung entschieden hervor, die weitere Umwandlung läßt merklich nach. Zur völligen Hemmung des Spaltvermögens ist indessen mehr Maltose als Glukose oder Saccharose nötig. Bei Laktose weist nur die 1-proz. Lösung weitgehende Oxydation der Zwischenprodukte auf. Im übrigen kann sich der Einfluß des Bacillus auf diesen Zucker in bedeutend geringerem Maße geltend machen.

Bacterium lactis aërogenes Escherich.

Wiederum abweichend von den bisher untersuchten Organismen verhält sich Bact. lactis aërogenes den Zuckerarten gegenüber, wie sich bei Betrachtung der in den folgenden Tabellen zusammengestellten Ergebnisse zeigt.

Tabelle XVII.

Bacterium lactis aërogenes Escherich.

Glukose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmengen in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	8 Tagen	Gesamt-Gasmenge ccm
1,0	85,5	—	—	—	33,7	—	119,2
5,0	—	166,8	—	—	—	71,2	238,0
10,0	77,6	83,4	82,5	—	—	69,7	313,2
15,0	—	149,1	67,9	—	—	70,7	287,7
20,0	—	—	—	83,6	—	23,7	107,3
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %						
1,0	40,23	—	—	—	42,73	—	
5,0	—	52,32	—	—	—	61,09	
10,0	50,37	65,34	69,21	—	—	65,99	
15,0	—	63,32	71,26	—	—	71,28	
20,0	—	—	—	61,36	—	58,65	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	42,73	56,15	1,12	33,56	12,38	4,80	7,58
5,0	61,09	38,25	0,66	12,13	14,78	4,94	9,84
10,0	65,99	32,59	1,42	4,75	13,44	1,09	12,33
15,0	71,28	27,95	0,77	—	9,90	0,75	9,15
20,0	58,65	40,72	0,63	—	7,56	0,58	6,98
30,0	im Gär-	Gärung nach 10 Tagen beendet. Gas- und Säurebildung.					
40,0	kölbchen	Nach 10 Tagen äußerst schwach geteilt.					

Tabelle XVII enthält die mit Glukose angestellten Versuche. Bei diesen ist die Gasentwicklung schon in den ersten Tagen sehr lebhaft. Der CO_2-Gehalt steigt mit zunehmender Gasmenge — bis zu 71,28 Proz. in 15-proz. Lösung — an. Da bei dieser Konzentration, wie aus Tabelle XVIIb zu ersehen ist, der Gehalt an flüchtiger Säure mit 7,57 Proz. den geringsten Betrag darstellt, ist anzunehmen, daß der Abbau des Glukosemoleküls in dieser Lösung am weitesten fortgeführt wird. Bei 20 Proz. Glukose läßt die Einwirkung des Bakteriums nach. Die Werte für Gasmenge, CO_2-Gehalt und Säurebildung sind erheblich kleiner. Der Zuckerverbrauch ist gering, die Menge der Gesamtsäure aber verhältnismäßig groß. Mit steigender Konzentration nimmt die flüchtige Säure bedeutend ab, so daß die oberen und unteren Werte weit auseinanderliegen:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	38,12	61,88
15	7,57	92,43

In 30-proz. Lösung wird nach 10 Tagen noch schwach Gas entwickelt, bei 40 Proz. Traubenzucker jedoch war nach 10tägiger Beobachtungsdauer nur der aërobe Schenkel äußerst schwach getrübt.

Alkohol und Aceton wurden gebildet, letzteres in reichlicher Menge, Indol dagegen nicht.

Gleichmäßiger, ohne bei wechselnder Konzentration große Schwankungen aufzuweisen, verläuft die Umsetzung der Maltose, deren Ergebnisse in Tabelle XVIII zusammengestellt sind.

Tabelle XVIII.

Bacterium lactis aërogenes Escherich.

Maltose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmengen in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	7 Tagen	8 Tagen	Gesamt-Gasmenge ccm
1,0	—	48,9	21,7	—	—	—	70,6
5,0	75,9	—	—	66,9	—	—	142,8
10,0	127,0	—	—	—	77,4	—	204,4
15,0	84,5	82,6	—	—	—	15,8	182,9
20,0	65,3	—	—	—	—	83,2	148,5
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %						
1,0	—	28,62	25,34	—	—	—	
5,0	30,83	—	—	42,31	—	—	
10,0	34,19	—	—	—	45,34	—	
15,0	32,66	40,79	—	—	—	40,50	
20,0	21,59	—	—	—	—	41,94	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	25,34	73,79	0,87	66,55	10,42	4,10	6,32
5,0	42,31	56,81	0,88	10,09	12,42	7,72	4,70
10,0	45,34	54,03	0,63	1,02	13,22	9,30	3,92
15,0	40,50	59,50	—	—	12,84	8,87	3,97
20,0	41,94	58,06	—	—	11,42	8,06	3,36
30,0	im	Gärung nach 10 Tagen beendet. Reichliche Gasbildung.					
40,0	Gär-	„ „ 10 „ „			„	„	
50,0	kölbchen	„ „ 12 „ „			Geringe Gas- u. Säurebildung.		

Der Gang der Gasbildung ist aus XVIII a ersichtlich, sie war regelmäßig zwischen der 18. und 30. Stunde am lebhaftesten und nach 5—8 Tagen beendet. Übereinstimmend mit der gleichzeitig größten Gasmenge ist der CO_2-Gehalt bei 10 Proz. Maltose am höchsten, steht aber hinter dem in Glukoselösungen erreichten weit zurück. Wie aus Tab. XVIII b hervorgeht, wird in 1-proz. Lösung ziemlich genau $^2/_3$ des vorhandenen Zuckers verbraucht, in den höheren Lösungen nimmt der Zuckerverbrauch schnell ab. Bei der Säure tritt mit steigender Konzentration die Bildung von flüchtiger Säure in den Vordergrund, infolgedessen liegt das Verhältnis von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure in anderen Grenzen als bei Traubenzucker:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	39,34	60,66
20	70,57	29,43

In der 30- und 40-proz. Lösung war die Umsetzung nach 10 Tagen beendet, es war reichlich Gas gebildet worden und die Lösung reagierte sauer. Auch die 50-proz. Maltoselösung ist das Bakterium noch zu zersetzen imstande. Nach 12 Tagen ist eine geringe Menge Gas gebildet, und die Lösung zeigt schwach saure Reaktion.

Alkohol und Aceton wurden überall nachgewiesen. Indol war in 1-proz. Lösung vorhanden, wurde aber bei höherer Konzentration nicht gefunden. Schwefelwasserstoffbildung trat nicht auf.

Tabelle XIX läßt den Verlauf der Umsetzung des Milchzuckers durch Bact. lactis aërogenes erkennen. Er ist diesem Organismus ebenso wie dem Bact. cloacae nicht in demselben Grade zugänglich wie die anderen Zuckerarten.

Tabelle XIX.

Bacterium lactis aërogenes Escherich.
Laktose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt	Entnommene Gasmengen in ccm nach					Gesamtgasmenge
%	1 Tage	2 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	8 Tagen	ccm
1,0	—	—	—	48,7	—	48,7
5,0	—	82,2	—	32,9	—	115,1
10,0	—	88,9	—	—	47,6	136,5
15,0	—	88,1	—	—	50,1	138,2
20,0	—	—	53,3	—	38,0	91,3
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %					
1,0	—	—	—	17,65	—	
5,0	—	26,15	—	18,54	—	
10,0	—	29,34	—	—	28,57	
15,0	—	29,60	—	—	27,34	
20,0	—	—	27,39	—	26,05	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt	Gas			Zuckerverbrauch	Säure		
	CO_2	H_2	Rest		Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
%	%	%	%	%			
1,0	17,65	81,17	1,18	17,04	9,40	5,71	3,69
5,0	18,54	81,46	—	4,86	15,62	9,56	6,06
10,0	28,57	70,57	0,86	0,63	17,25	10,34	6,91
15,0	27,34	71,73	0,93	—	16,62	9,74	6,88
20,0	26,05	72,79	1,16	—	11,34	7,66	3,68

Die Gärung setzt erst nach 20—24 Stunden ein, so daß am 1. Tage nach der vollzogenen Impfung Gas nicht entnommen werden konnte. Sie ist zwischen 30 und 48 Stunden besonders lebhaft, und ist nach 6—8 Tagen beendet, wie Tab. XIX a angibt. Der CO_2-Gehalt ist im allgemeinen gering, er steigt bis 29 Proz. in 10- und 15-proz. Lösung an. Diese weisen zugleich die höchsten Gasmengen auf. Der Betrag an CO_2 und H_2 erreicht im günstigsten Falle noch nicht das Verhältnis von 1 : 2. Tab. XIX b enthält die die Intensität der Säurebildung bezeichnenden Werte. Hiernach ist bei 10 Proz. Laktose die größte Säuremenge vorhanden. In der Zusammensetzung der Säure über-

wiegt die flüchtige Säure im Verhältnisse zur nichtflüchtigen, und zwar bei allen Konzentrationen. Eine Annäherung der Werte, wie dies bei den weiter oben beschriebenen Bakterien nachgewiesen wurde, ist hier nicht zu beobachten. Es ergeben sich folgende Grenzwerte:

Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
58,60	41,40
67,46	32,54

Bei Bestimmung des Zuckerverbrauchs wurden im Vergleiche mit anderen Versuchsreihen sehr geringe Beträge festgestellt.

Es steht diese Beobachtung in starkem Widerspruche zu der Angabe von Baginski (11), der den Zuckerverlust in 10-proz. Laktoselösung mit 78,2 Proz. berechnet. Die Verschiedenheit der Versuchsanordnung kann nicht die Ursache der so großen Abweichung sein. Sie wird sich eher dadurch erklären lassen, daß Baginski die zuckerhaltige Lösung vor der Bakterieneinsaat dreimaliger Sterilisation von ½—1 Stunde unterzog, wodurch die Zuckerlösung „eine braune Farbe annahm", also bereits Zersetzungen eingegangen war; ferner dadurch, daß für die Zuckerbestimmung selbst dieselbe Lösung verwendet wurde, die vorher der Destillation zur Trennung

Tabelle XX.

Bacterium lactis aërogenes Escherich.

Saccharose.

a) Gasentnahme während der Umsetzung.

Zuckergehalt %	Entnommene Gasmengen in ccm nach 1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	6 Tagen	7 Tagen	Gesamtgasmenge ccm
1,0	61,9	—	—	69,5	—	131,4
5,0	85,9	70,9	—	—	13,1	169,9
10,0	76,6	—	—	—	86,9	163,5
15,0	87,9	—	56,9	—	22,2	167,0
20,0	—	150,9	—	—	80,3	231,2
	CO_2-Gehalt der einzelnen Gasmengen in %					
1,0	30,04	—	—	46,76	—	
5,0	38,30	47,81	—	—	41,22	
10,0	39,40	—	—	—	52,24	
15,0	39,70	—	56,59	—	55,85	
20,0	—	56,86	—	—	71,23	

b) Analyse nach beendeter Umsetzung.

Zuckergehalt %	Gas CO_2 %	H_2 %	Rest %	Zuckerverbrauch %	Säure Gesamtmenge	Flüchtige Säure	Nichtflüchtige Säure
1,0	46,76	52,10	1,14	67,48	13,26	6,12	7,14
5,0	41,22	57,49	1,29	6,54	14,52	5,36	9,16
10,0	52,24	47,12	0,64	1,34	16,24	5,88	10,36
15,0	55,85	42,78	1,37	—	13,72	4,20	9,52
20,0	71,23	28,06	0,71	—	12,96	2,16	10,80
30,0	Im Gärkölbchen	Gärung nach 10 Tagen beendet. Reichlich Gas gebildet.					
40,0		Gärung nach 12 Tagen beendet. Gas- und Säurebildung.					
50,0		Nach 12 Tagen unverändert.					

der flüchtigen von den nichtflüchtigen Säuren unterzogen wurde. Das Durchleiten des Dampfstromes wird den Betrag an unzersetztem Zucker abermals herabgesetzt haben.

Alkohol und Aceton waren in kleinen Mengen vorhanden, sehr reichlich dagegen überall Indol. Es gab sich durch die augenblicklich eintretende sehr intensive Rotfärbung zu erkennen.

Die von Emmerling (14) mitgeteilte Beobachtung über das Schleimigwerden von 10-proz. Laktoselösungen konnte ich bei meinen Versuchen während der Versuchsdauer, die sich, wie oben erwähnt, über 8 Tage erstreckte, nicht machen.

Über das Verhalten des Bact. lactis aërogenes zu Rohrzucker gibt Tabelle XX Aufschluß. Hier setzt die Gärung schon nach 12—15 Stunden ein, so daß nach 24 Stunden ziemlich reichlich Gas entnommen werden konnte. Sie erreicht zwischen der 18. und 30. Stunde nach erfolgter Impfung den Höhepunkt, und ist, auch in hochkonzentrierten Lösungen nach 7 Tagen beendet. Die Gasmenge hält sich von 5—15 Proz. Saccharose auf ziemlich gleicher Höhe, nimmt aber in 20-proz. Lösung erheblich zu. Dieses Verhalten, wonach die 20-proz. Lösung anscheinend ebensogut wie die weniger stark konzentrierten vergoren wird, konnte bei keiner anderen Zuckerart und bei keinem anderen Bakterium beobachtet werden.

Wir finden ferner auch hier die bisher nur bei der Vergärung von Glukose durch Bact. lactis aërogenes (siehe oben S. 31) und von Laktose durch Bact. cloacae (siehe S. 28) beobachtete Erscheinung, daß das Verhältnis zwischen CO_2 und H_2 in der gebildeten Gasmenge bei den verschiedenen Konzentrationen verschieden ist, ja sich schließlich vollständig umkehrt. In der 1- und 5-proz. Lösung wird weniger CO_2 als H_2 gebildet, umgekehrt in der 10- und 15-proz. mehr CO_2 als H_2. Man vergleiche in Tabelle XX a die gewonnene CO_2-Menge in der 1-proz. Lösung mit der der 20-proz. Das Verhältnis $CO_2 : H_2$ ist zuerst annähernd 1 : 1, zuletzt fast 3 : 1.

Die Ergebnisse nach beendeter Umsetzung (siehe Tab. XX b) zeigen gleichmäßig starke Säurebildung, die bei 10 Proz. Rohrzucker die obere Grenze erreicht. Der Gehalt an flüchtiger Säure beträgt in 1-proz. Lösung noch nicht die Hälfte der Gesamtsäure und sinkt beständig mit zunehmendem Zuckergehalt. Der Hauptanteil der gebildeten Säure fällt also der Milchsäure zu, wie auch aus den Anfangs- und Endwerten der Reihe zu ersehen ist:

Zuckergehalt %	Flüchtige Säure %	Nichtflüchtige Säure %
1	46,25	53,75
20	16,66	83,34

Der Zuckerverbrauch steht mit 67,48 Proz. in 1-proz. Lösung dem in der entsprechenden Maltoselösung ermittelten Werte sehr nahe und nimmt wie dort bei steigender Konzentration gleichfalls schnell ab. In Lösungen von 30- und 40 Proz. Saccharose wird nach 10- bez. 12tägiger Versuchsdauer noch Gas gebildet, erst in 50-proz. Lösung ist das Bacterium nicht mehr fähig, zersetzend auf das Zuckermolekül einzuwirken.

Alkohol und Aceton wurden in allen Versuchen nachgewiesen, während Indol- und Schwefelwasserstoffbildung in dieser Reihe nicht eintrat.

Vergleicht man die Ergebnisse der Einwirkung des Bact. lactis aërogenes auf die verschiedenen Zuckerarten, so stehen bezüglich der

Fähigkeit vergoren zu werden Saccharose und Glukose an erster Stelle. Es ist aber die Intensität der Einwirkung bei beiden verschieden, wie sich erstens aus dem Zuckerverbrauche ersehen läßt; wollte man diesen mit Hilfe von Kurven wiedergeben, wobei die Ordinaten die Prozente verbrauchten Zuckers wären, die den als Abszissen aufgetragenen Prozenten dargebotenen Zuckers entsprächen, so würde die den Verbrauch von Saccharose bezeichnende Kurve hoch einsetzen und steil abfallen, während sich der Gärungsverlust an Glukose durch eine in halber Höhe einsetzende und flacher verlaufende Kurve ausdrücken ließe. Zweitens liefert die Spaltung der Rohrzuckerlösungen überwiegend Säure, während in Glukoselösungen der Abbauprozeß insofern anders verläuft als die flüchtige Säure mit steigender Konzentration weiter gespalten wird, so daß im Zusammenhang damit der CO_2-Gehalt des Gases durchschnittlich höher ist als in Saccharoselösungen.

Anders sind die Ergebnisse bei Umsetzung von Maltose. Hier bleibt die Spaltung in erhöhtem Maße bei der Säurebildung stehen, und zwar nimmt der Gehalt an flüchtiger Säure bei steigender Konzentration zu; der CO_2-Gehalt steigt nicht über 45,3 Proz. an. Bei der Laktosegärung ist er noch niedriger. Andererseits sind die in dieser Versuchsreihe gefundenen Säurezahlen höher als in den übrigen, und wie bei Maltose überwiegt hier die Bildung von flüchtiger Säure.

Zusammenfassung.

Stellt man zum Schluß die Ergebnisse der vorliegenden Versuche den Befunden früherer Arbeiten gegenüber, so ergeben sich neben einer Reihe übereinstimmender Beobachtungen zahlreiche Abweichungen sowie eine Anzahl neuer Tatsachen, die unsere Kenntnisse von der Umsetzung der Zuckerarten durch Bakterien zu erweitern vermögen.

Dahin gehört die Beantwortung der Fragen, bis zu welchem Zuckergehalte sich die Einwirkung der Bakterien erstreckt, also Gärungserscheinungen eintreten, und welche Konzentration der Zuckerlösungen die bakterielle Tätigkeit am günstigsten beeinflußt. Über beide Fragen lagen bisher noch keine Untersuchungen vor. Nach den oben erwähnten Angaben von Hellström war anzunehmen, daß die günstigsten Bedingungen für die Entwicklung der Bakterien bei sehr geringem Zuckergehalt, also unter 1 Proz. lägen, und daß ihre Lebenserscheinungen bei steigender Konzentration der Zuckerlösung sehr bald erlöschen würden.

Durch die vorliegende Arbeit ist aber festgestellt worden, daß als Optimum der Konzentration der zu fermentierenden Zuckerlösung, je nach den Eigenschaften der betreffenden Bakterien, ungefähr ein Gehalt von 6—10 Proz. der verschiedenen Zuckerarten anzusehen ist. Ferner hat sich ergeben, daß sich das Spaltvermögen der Bakterien noch bei hoher Konzentration der Zuckerlösung äußert und — abhängig von der biologischen Qualität des jeweils verwendeten Mikroorganismus — erst bei Gehalten von 30—50 Proz. der verschiedenen Zuckerarten erlischt.

Hinsichtlich der größeren oder geringeren Zugänglichkeit der verschiedenen Zuckerarten für die bakterielle Spalttätigkeit lassen sich die Ergebnisse meiner Untersuchungen folgendermaßen zusammenfassen:

Glukose in ihrer Eigenschaft als Monose wird von allen Bakterien angegriffen und bis zu Gehalten von 25—30 Proz. vergoren.

Von den untersuchten Biosen wird Maltose gleichmäßig weitgehend umgesetzt. Sie wird noch bei höherer Konzentration angegriffen als Glukose;

denn mit Ausnahme des Bact. vulgare zersetzen die untersuchten Mikroorganismen selbst die 40-proz. Maltoselösung, ja die Spalttätigkeit des Bact. lact. aërogenes wird sogar bei einem Gehalte von 50 Proz. noch nicht gehemmt. Diese größere Widerstandsfähigkeit einem höheren Gehalte von Maltose als von Glukose gegenüber läßt sich vielleicht in ähnlicher Weise, wie es Bokorny (41) bei Hefearten tut, dadurch erklären, daß die durch Hydrolyse entstehenden Traubenzuckermolekeln von dem Spaltfermente der Bakterien leichter weiter umgesetzt werden als fertiger Traubenzucker. Voraussetzung ist allerdings, daß Fermente auch bei der Bakteriengärung eine Rolle spielen.

Laktose erweist sich den untersuchten Bakterien mit Ausnahme von Bact. vulgare als leidlich gut zugänglich. Die geringere Löslichkeit dieser Zuckerart verhindert Beobachtungen der bakteriellen Leistungen bei höheren Konzentrationen.

Einem hohen Saccharosegehalte gegenüber verhalten sich die Bakterien wie bei Maltose; ihr Spaltvermögen versagt erst bei höherer Konzentration. Vielleicht in gleicher Weise wie dort infolge der hier als Inversion bezeichneten Hydrolyse.

Die restlose Verarbeitung des Zuckers ist in keinem Versuche erreicht worden. Die untersuchten Bakterienarten verhalten sich in dieser Beziehung wie die Hefearten, bei denen auch im günstigsten Falle nur bis zu 95 Proz. des Zuckers umgesetzt werden. — Die Berechnung der absoluten Werte des Zuckerverbrauchs ergibt, daß in der Mehrzahl der Reihen in der gleichen Zeiteinheit am meisten Zucker in 5-proz. Lösungen zerlegt wird. Es ist auch dies ein Beweis dafür, daß die Optima der Zuckerkonzentrationen für die Bakterien nicht bei 1 Proz., sondern viel höher, eben bei 5—8 Proz. liegen. Glatte Kurven mit einem An- und Abstieg ergeben im allgemeinen die Zahlen bei Glukose, während der Verbrauch bei Laktose in der 2- oder auch 3-proz. Lösung zunächst gegenüber der 1-proz. abfällt, um dann in der 4—6-proz. wiederum anzusteigen. Dieser Anstieg erreicht nicht immer die absolute Verbrauchszahl der 1-proz. Lösung.

Beispiel:

Zuckerkonzentration	Coli Glukose absol. Verbr.	Coli Laktose absol. Verbrauch	Fitzian Laktose absol. Verbr.
1 %	0,48 g	0,24 g	0,40 g
2 %	0,61 „	0,16 „	0,24 „
3 %	0,72 „	0,18	0,27 „
4 %	—	0,22 „	0,296 g
5 %	0,82 „	0,20 „	0,296 „
6 %	0,55 „	0,22 „	0,299 „
7 %	—	0,219 g	0,25 g
8 %	0,31 „	0,17 g	0,18 „
9 %	0,09 „	0,14 „	—
10 %	0,03 „	0,09 „	0,06 „

Die Dauer der Gärung wird bei jedem Bacterium durch die Konzentration der Zuckerlösung bedingt. Bei geringem Zuckergehalte beträgt sie in vielen Fällen nur 5 Tage, bei sehr hohem bis zu 16 Tage. Der Unterschied in der Gärungsdauer zwischen Lösungen von niedriger und sehr hoher Konzentration ist am kleinsten bei Laktose, am größten bei Maltose.

Das Aufhören der Gärungserscheinungen wird nicht durch Absterben der Bakterien, sondern durch vorübergehende Hemmung ihrer Spaltfähigkeit

bedingt, deren Ursache vielleicht in der Säurebildung zu suchen ist. Die Lebensfähigkeit selbst erlischt erst weit später und hängt von der Widerstandskraft des Bacteriums ab. Unter den von mir untersuchten Organismen zeigte Bact. cloacae die längste Lebensdauer.

Die in früheren Untersuchungen festgestellten Stoffwechselprodukte wie Alkohol und Aceton sowie Milchsäure und Essigsäure sind auch von mir bei allen Zuckerarten gefunden worden.

Die Menge der gebildeten Säure und ihre Zusammensetzung ist nicht beständig, sondern, wie sich ergeben hat, von verschiedenen Bedingungen abhängig: in erster Linie von dem Umsetzungsvermögen der Bakterien, dann von der Zuckerart, die dem Organismus geboten wird, und der Konzentration ihrer Lösung. So ist die Gesamtsäure im allgemeinen hoch bei Bact. coli, Bac. Fitzianus und Bact. lactis aërogenes, verhältnismäßig niedrig bei Bact. vulgare und teilweise auch bei Bact. cloacae. — Vergleicht man die Höchstbeträge an Säure, so weisen Bact. coli und Bac. Fitzianus gleichmäßig die höchsten Werte in Glukose-, die geringsten in Laktoselösungen auf. Bei den übrigen Mikroorganismen ist eine ähnliche Übereinstimmung nicht beobachtet worden. Bact. lactis aërogenes zeigt geringe Abstufungen der einzelnen Werte, die größte Säuremenge ist in Laktoselösungen festgestellt worden, dann folgen der Reihe nach Saccharose, Glukose, Maltose. Bei Bact. cloacae sind die Unterschiede sehr groß, Maltose steht an erster, Glukose an letzter Stelle. Bact. vulgare dagegen bildet bei Glukose und Saccharose etwa gleichviel Säure, während die Gesamtsäure bei Maltose einen geringeren Wert aufweist.

Im Verhältnisse von flüchtiger zu nichtflüchtiger Säure herrscht keine Regelmäßigkeit, nur in Laktoselösungen nimmt bei allen untersuchten Bakterien mit steigender Konzentration der Zuckerlösung die flüchtige Säure zu, die nichtflüchtige ab. Im übrigen ist die Zusammensetzung der Säure bei jedem Bacterium in jeder Zuckerart und bei jeder Konzentration verschieden. Die Angaben früherer Untersucher über den Essigsäure- und Milchsäuregehalt vergorener Zuckerlösungen (vergl. die oben erwähnte Angabe von Oppenheimer (12)) sind also nur für die betreffende Versuchsanordnung und die angewendete Konzentration gültig.

Für die Gasmenge und die Zusammensetzung des Gases sind dieselben Bedingungen maßgebend wie für Bildung und Zusammensetzung der Säure. — Bakterien mit kräftigem Gärvermögen, wie Bact. cloacae und Bact. lactis aërogenes oxydieren die Spaltungsprodukte in höherem Maße bis zur Gasbildung als andere Mikroorganismen unter sonst gleichen Bedingungen. — In Zusammenhang damit steht die wechselnde Menge Kohlensäure und Wasserstoff, der beiden Bestandteile des Gases. Ihr Verhältnis zueinander wird also ebenfalls beeinflußt durch das verschieden starke Oxydationsvermögen der Bakterien, durch die Zuckerart und die Konzentration ihrer Lösung. Die infolgedessen eintretenden Schwankungen können beträchtlich sein, besonders auffällig wechselt bei Bact. lact. aërogenes das Verhältnis von $CO_2 : H_2$ in Glukose- und Saccharoselösungen.

Methanbildung ist in keinem Falle beobachtet worden.

Von Zersetzungsprodukten des Peptons ist Schwefelwasserstoff und Indol nachgewiesen worden. Während aber Schwefelwasserstoff nur in Lösungen auftritt, die mit Bact. vulgare geimpft worden sind, wird Indol unter ganz verschiedenen Bedingungen gebildet.

Zur besseren Übersicht über das wechselnde Eintreten der Indolreaktion sind die Ergebnisse der Indolprüfung in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle XXI.

Indolbildung.

	Pepton-Kochsalzlösungen ohne Zuckerzusatz	mit Zusatz von Glukose	Maltose	Laktose	Saccharose
Bact. coli comm.	+	—	+	—	+
Bact. Fitziann.	+	—	+	—	+
Bact. vulgare	+	+[1]	+	+	+ +
Bact. cloacae	—	—	—	—	—
Bact. lact. aërog.	+	—	+[2]	+ +	—

Erklärung: — keine Indolbildung.
\+ Indolbildung.
\+ + sehr starke Indolbildung.

[1]) Erst bei 10 und mehr Proz. Glukose
[2]) Nur bei 1 Proz. Maltose.

Es ergibt sich somit, daß Indol — bei Verwendung von 1-proz. Peptonlösung mit Zusatz von 0,5 Proz. Kochsalz — häufiger bei Anwesenheit von Maltose als von anderen Zuckerarten gebildet wird, und daß Bact. vulgare in Saccharose-, Bact. lactis aërogenes in Laktoselösungen sich durch besonders reichliche Indolbildung auszeichnen. In einem Falle — in Tab. XXI mit 1) bezeichnet — wurde Indol erst bei höherer Konzentration der Zuckerlösung gebildet, in zwei anderen Fällen — mit + + in der Tabelle angegeben — war die Indolbildung bei höherem Zuckergehalt reichlicher als bei geringerem. Es geht daraus hervor, daß sich die Spalttätigkeit des Bact. lactis aërogenes und mehr noch des Bact. vulgare bei höherem Zuckergehalt wieder mehr den stickstoffhaltigen Nährstoffen zuwendet.

Auffällig ist das Ausbleiben der Indolbildung bei Bact. cloacae. Durch besondere Versuche ist festgestellt worden, daß dieses Bacterium weder in den von Selter (24) empfohlenen 10-proz. Peptonlösungen noch in Fleischbouillon-Nährlösungen mit und ohne Zusatz der verschiedenen Zuckerarten Indol bildete.

Die Smithsche Annahme, daß die Säurebildung das Auftreten von Indol beeinträchtige, läßt sich nach den vorliegenden Ergebnissen nicht aufrecht erhalten, denn z. B. gerade in Laktoselösungen, die mit Bact. lactis aërogenes geimpft worden sind und hohen Säuregrad aufweisen, findet sich Indol sehr reichlich. — Auch die von verschiedenen Seiten aufgestellte Behauptung, daß die Gegenwart von Glukose unter allen Umständen Indolbildung verhindere, wird durch das teilweise Vorhandensein von Indol bei Bact. vulgare widerlegt. — Berücksichtigt man ferner noch das wechselnde Verhalten des Bact. lactis aërogenes in Maltoselösungen, so gelangt man zu der Annahme, daß die Indolbildung ebenso wie andere Äußerungen bakterieller Tätigkeit von bestimmten Versuchsbedingungen, besonders der Zusammensetzung des Nährbodens, abhängig ist.

Späteren Untersuchungen vorbehalten bleibt noch das merkwürdige Verhalten einzelner Bakterien bestimmten Zuckerarten gegenüber. Wie läßt sich das Ausbleiben der Einwirkung des Bact. coli auf Rohrzucker oder des Bact. vulgare auf Milchzucker erklären? Bei den Hefearten sind ähnliche Vorgänge beobachtet worden, und es ist gelungen, auf diesem

Gebiete eine Erklärung dafür durch Isolierung der einzelnen Enzyme zu finden, die die Zuckerumsetzung bewirken. Sehr naheliegend ist die Übertragung dieser Verhältnisse auf das Gebiet der Bakterien, doch sind hier die Angaben von Kuhtz (42) noch unwiderlegt, wonach Glukose durch Bact. coli ohne Stickstoffzufuhr nicht umgesetzt wird, das Gärvermögen bei diesem Organismus also an die lebende Zelle gebunden sei. Andererseits ist aber durch Buchner die Abtrennung eines Gärungsenzyms bei Milchsäure- und Essigsäurebakterien ausgeführt worden, und es erscheint daher nicht unwahrscheinlich, daß das Spaltungsvermögen der Bakterien überhaupt auf der Wirkung von Enzymen beruht, die in ähnlicher Weise wie bei den Hefearten zu charakterisieren wären. Würde die Richtigkeit dieser Annahme erwiesen, so könnte das Fehlen der Umsetzungsvorgänge z. B. bei Einwirkung des Bact. coli oder des Bac. Fitzianus auf Saccharose und des Bact. vulgare auf Laktose befriedigend dahin erklärt werden, daß die in Frage kommenden Enzyme bei diesen Mikroorganismen nicht vorhanden wären.

Literatur.

1. Lafar, Handbuch d. techn. Mykologie. Bd. IV.
2. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1909.
3. Jensen, O., Studien über die Enzyme im Käse. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 6. p. 838.)
4. Emmerling, O., Die Zersetzung stickstoffreier organischer Substanzen durch Bakterien. Braunschweig 1902.
5. Harden, A., Fermentation of sugars by Bact. coli commune and allied organismes. (Transact. of Jenner Instit. II. 1899.)
6. Smith, Th., The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 14. 1893. p. 864.)
7. —, Über die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 18. 1895. p. 1.)
8. Fuhrmann, Fr., Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 19. p. 227.)
9. Wolff, A., Zur Kenntnis der Veränderungen in der Bakterienflora der frischen Milch. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 20. 1908. p. 762.)
10. Brieger, E., Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13. p. 352.
11. Ide, Anaërobiose du bacille commun de l'intestin et de quelques autres bactéries. (La Cellule T. 7. Fasc. 2.)
12. Oppenheimer, C., Biologie der Milchkotbakterien des Säuglings. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 6. 1889. p. 586).
13. Baginski, Zur Biologie der normalen Milchkotbakterien. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 12. p. 434.)
14. MacConkey, Lactose fermenting bacteria in faeces. (Journ. of Hyg. Vol. 5. p. 33; ref. n. Twort, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 40. 1907. p. 508.)
15. Stokes and Stoner, Dextrose vs. lactose for detecting the colon bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.-Bd. 51. 1909. p. 459.)
16. Emmerling, O., Spaltpilzgärungen. (Biol. Berichte. Bd. 33. 1900. p. 2477.)
17. Kayser, E., Annal. Instit. Past. T. 8. 1894. p. 779; ref. n. Emmerling, (4), p. 33.)
18. Jensen, O., Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. p. 305.)
19. Segin, A., Über die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 202.)
20. —, Fortsetzung. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1904. p. 398.)
21. Smith, Th., Journ. of exper. Med. Vol. 2; ref. n. Baumgarten. Bd. 13. p. 864.)
22. Gorini, Anmerkung über die Cholerarotreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. p. 790.)
23. Kruse und Pasquale, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16. 1894. p. 60.)
24. Selter, Über Indolbildung durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 465.)

25. Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. Teil II. 1907.
26. Böhme, A., Nachweis von Indol. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 129.)
27. Proskauer und Beck, Beiträge zur Ernährungsphysiologie des Tuberkelbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 18. p. 128.)
28. Kuntze, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. p. 1.)
29. Omelianski, Über Methanbildung in der Natur bei biologischen Prozessen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. p. 681.)
30. Ritter, Beiträge zur Physiologie der fakultativ-anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. p. 20.)
31. Ampola und Garino, Über die Denitrifikation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 2. p. 760.)
32. Hofstädter, E., Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 765.)
33. Hempel, W., Gasanalytische Methoden. Braunschweig 1900.
34. Foerster, Apparat zur Milchsäurebestimmung. (Chem. Ztg. Bd. 22. 1898. p. 421.)
35. Kitasato, Die negative Indolreaktion des Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. p. 519.)
36. Böhme, A., Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 130.)
37. Crossonini, Über den Nachweis von Indol in den bakterischen Kulturen mit der Ehrlichschen Methode. (Arch. f. Hyg. Bd. 72. 1910. p. 160.)
38. Kohn, E., Zur Biologie der Wasserbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. p. 690.)
39. Hellström, Zur Kenntnis der Einwirkung kleiner Glukosemengen auf die Vitalität der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 25. 1899. p. 170.)
40. Torri, O., Il glucosio nelle culture dei microorganismi. (La clinica mod. 1905. No. 31.)
41. Bokorny, Vergärung von Rohrzucker und Malzzucker bei hoher Zuckerkonzentration. (Allgem. Brauer- u. Hopfenzeitg. 1903.)
42. Kuhtz, Vergärung des Traubenzuckers durch Bact. coli commune. Archiv f. Hyg. Bd. 58. p. 125.)

Fürstlich priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff),
Rudolstadt.